

**CHROMATOGRAPHISCHE
UNTERSUCHUNGEN
AN SEXUALLOCKSTOFFEN
VON LEPIDOPTEREN
UND
VERWANDTEN VERBINDUNGEN**

Den Naturwissenschaftlichen Fachbereichen
der Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen-Nürnberg
zur
Erlangung des Doktorgrades

vorgelegt von
WERNER SCHWARZ
aus
Nürnberg

1975 № 320

CHROMATOGRAPHISCHE UNTERSUCHUNGEN
AN SEXUALLOCKSTOFFEN VON LEPIDOPTEREN
UND VERWANDTEN VERBINDUNGEN

Den Naturwissenschaftlichen Fachbereichen
der Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg

zur

Erlangung des Doktorgrades

vorgelegt von

WERNER SCHWARZ

aus

Nürnberg

Als Dissertation genehmigt
von den Naturwissenschaftlichen Fachbereichen
der Universität Erlangen - Nürnberg



Tag der mündlichen Prüfung: 15. Juli 1975

Vorsitzender der
Promotionskommission:

Professor Dr. H. Behrens

Erstberichterstatter:

Professor Dr. H.J. Bestmann

Zweitberichterstatter:

Professor Dr. G. Hesse

Ich bin sehr dankbar, dass Herr Professor
Dr. H. J. Westermann meine von ihm für die
Ermittlung dieser Arbeit erhaltene und stets wert-
volle Unterstützung.

Mein Dank gilt ferner Herrn Prof. Dr.
W. Kischke für die Hilfe bei der Er-
stellung des Zusammenfassenden.

Für die Mitteilungen der folgenden Herren:
der Schriftleitung und der D. J. - Abteilung
sowie der folgenden Herren und Herren
Herrn Dr. H. J. Westermann, Herrn Dr. Kischke
und Herrn Dr. H. J. Westermann.

Meinen lieben Eltern
in Dankbarkeit gewidmet

Der Frau Dr. H. J. Westermann & Herrn Dr. Kischke
sowie für die Überlassung einer
abgedruckten Zusammenfassung.

Dem Herrmann, dem ich meine Arbeit
für die D. J. - Abteilung und Schriftleitung.

Meinem verehrten Lehrer, Herrn Professor
Dr. H.J. Bestmann danke ich für die Be-
treuung dieser Arbeit und stete wert-
volle Unterstützung.

Mein Dank gilt ferner Herrn Dipl.-Phys.,
W. Kleinlein für die Hilfe bei der Er-
stellung des Computerprogrammes.

Für die Aufnahme der diversen Spektren,
der Photographien und der C,H - Analysen
danke ich folgenden Damen und Herren
Frau Meloch, Frä. Schmidt, Herrn Hertwich
und Herrn Zankel.

Der Firma Joh. Barth & Sohn, Nürnberg
danke ich für die Überlassung einer
elektrischen Schreibmaschine.

Ganz besonders danke ich meiner Frau
für das Schreiben des Manuskripts.

Inhaltsverzeichnis

	Seite
A.	EINLEITUNG
I.	Der Begriff "Pheromon"
I.1.	Einteilung der Pheromone
I.2.	Wirkung von "Releaser-Pheromonen"
I.3.	Das Vorkommen von Pheromonen
I.4.	Bedeutung von Pheromonen für die Umwelt
II.	Die Isolation von Insekten-Sexualpheromonen
III.	Bestimmung der biologischen Aktivität
III.1.	Der Schwirr-Test
III.2.	Der Olfaktometer-Test
III.3.	Elektrophysiologische Ableitungen
III.4.	Der Freiland-Test
IV.	Die chemische Konstitution von Sexualpheromonen weiblicher Lepidopteren
B.	EIGENE ARBEITEN
I.	Analytische Problemstellung
I.1.	Material und Methode
I.1.1.	Dünnschicht-Chromatographie
I.1.2.	Gaschromatographie
I.1.2.1.	Auswertung gaschromatographischer Retentionswerte
I.1.2.2.	Auswertung der Einzelkomponenten nach der GC-Trennung
I.1.2.3.	Kombination GC-MS
I.1.2.4.	Substanzidentifizierung mittels homologer Reihen
I.1.3.	Auswertung der chromatographischen Daten mittels Computer

I.1.3.1.	Erstellung des Programms	28
I.2.	Verwendete Geräte und stationäre Phasen	32
II.	Spezielle Untersuchungen	32
II.1.	Bestimmung von Erfassungsgrenzen mit Hilfe der Dünnschicht-Chromatographie	32
II.2.	Kombination Dünnschicht-Chromatographie und Gaschromatographie	33
II.2.1.	Erklärung des Analysenganges	35
II.3.	Bestimmung von Erfassungsgrenzen mit Hilfe der Gaschromatographie	41
II.4.	Isomerentrennung	42
III.	Gaschromatographische Untersuchungen an homologen Reihen	44
III.1.	Meßergebnisse	45
III.2.	Diskussion der Meßergebnisse	66
III.3.	Versuch einer Deutung der Trennergebnisse für (Z)- und (E)-Isomere mit Hilfe des Verteilungskoeffizienten	76
III.3.1.	Modellvorstellung zur Wechselwirkung Komponente - stationäre Phase	76
III.4.	Zusammenhang zwischen Retentionszeit und Stellung der Doppelbindung	80
III.5.	Darstellung der homologen Reihen in der Form $\log V_R = k \cdot C + b$	86
IV.	Probenuntersuchung und Auswertung der chromatographischen Ergebnisse mittels Computer	89
IV.1.	Untersuchte Proben	89
IV.2.	Probenvorbereitung	89
IV.2.1.	Ostrinia nubilalis	89
IV.2.2.	Agrotis exclamationis	90
IV.2.3.	Heliothis virescens	90
IV.3.	Meßergebnisse	90
IV.3.1.	Ergebnisse für Ostrinia nubilalis	90
IV.3.2.	Ergebnisse für Agrotis exclamationis	94
IV.3.3.	Ergebnisse für Heliothis virescens	97

	Seite
IV.4.	Überblick über die Meßergebnisse 101
V.	Synthetische Arbeiten 102
V.1.	Darstellung der Verbindungen mit Doppelbindung in Position 6 102
V.2.	Präparativer Teil 104
V.2.1.	Cyclohexanon diaethylketal 104
V.2.2.	Cyclohexenyl-1-äthyläther 104
V.2.3.	5-(Äthoxy-carbonyl)-pentanal 104
V.2.4.	(Z)-6-Dodecensäureäthylester 105
V.2.5.	(Z)-6-Dodecenol 106
V.2.6.	(Z)-6-Dodecenyl-1-acetat 107
C.	ZUSAMMENFASSUNG 108
I.	Dünnschicht-Chromatographie 108
II.	Kombination Dünnschicht-Chromatographie - Gaschromatographie 108
III.	Untersuchung über die Trennung von geometrischen Isomeren auf Silar-10C 109
IV.	Substanzidentifizierung mittels homologer Reihen 110
D.	LITERATURVERZEICHNIS 112

A. EINLEITUNG

I. Der Begriff "Pheromon"

Nach einem Nomenklaturvorschlag von Karlson und Lüscher ¹⁾ werden Signalstoffe mit intraspezifischer Funktion heute allgemein unter dem Begriff der Pheromone zusammengefaßt. Ihnen gegenüber steht die Fülle der zwischen artverschiedenen Organismen wirksamen Substanzen, für die Braun et al. ²⁾ eine Gliederung in Allomone und Kairomone vorgeschlagen hat. Beispiele für Allomone sind Warn- und Wehrsekrete, für Kairomone Futterpflanzen-, Wirts- oder Beuteduftstoffe. Diese Unterteilung konnte sich jedoch nicht durchsetzen. Heute bezeichnet man auch Substanzen mit allomon- oder kairomonartiger Wirkung als Pheromone.

Der Name Pheromon leitet sich vom griechischen pherein (tragen, übertragen) und horman (erregen, anregen) ab. Der grundsätzliche Unterschied zwischen Pheromon und Hormon besteht darin, daß Substanzen mit Pheromonwirkung nach außen hin abgegeben werden, während Hormone rein endokrinal wirken.

I.1. Einteilung der Pheromone

Über die Einteilung der Pheromone herrscht in der Literatur noch keine Klarheit, manche Autoren unterteilen in:

1. Sexuallockstoffe, 2. Versammlungs- oder Aggregationspheromone, 3. Spur- oder Markierungssubstanzen, 4. Alarmsubstanzen.

Eine gebräuchlichere Einteilung ist von Karlson vorgeschlagen worden. Er unterscheidet zwischen:

1. olfaktorisch oder 2. oral wirksamen Faktoren.

Diese Einteilung entspricht weitgehend der in den angelsächsischen Ländern verwendeten Terminologie. Die dortige Literatur gliedert in zwei Pheromongruppen:

1. releaser (Auslöserpheromone), 2. primer (Aktivierungspheromone).

Die "releaser" entsprechen den olfaktorisch wirksamen Pheromonen, die "primer" den oral wirksamen Pheromonen. Während "Primer-Pheromone" langanhaltende Veränderungen des physiologischen Zustandes hervorrufen, d.h. Veränderungen des endokrinalen Status, und damit z.B. die Reaktionsbereitschaft auf später eintreffende Signale verändern, bewirken die "Releaser-Pheromone" eine unmittelbare Reaktion, die eine kurzzeitige Antwort des Nervensystems auf einen empfangenen Reiz darstellt. Für gewöhnlich hält diese Reaktion nur wenige Sekunden oder Minuten an. In der vorgelegten Arbeit sollen speziell nur "releaser" behandelt werden.

I.2. Wirkung von "Releaser-Pheromonen"

"Releaser-Pheromone" können die Reaktionsbereitschaft auf verschiedene Reize erhöhen, vermindern oder ganz unterdrücken. Beispiele hierfür sind die Alarmsubstanzen der sozialen Insekten, (Bienen, Termiten, Ameisen) und die "Arrestant-Wirkung" vieler männlicher Sexualpheromone. "Arrestant-Pheromone" wirken beruhigend auf das Weibchen und lösen seine Bereitschaft zur Kopulation aus. Auch die weiblichen Sexualpheromone von Lepidopteren gehören zu den "releasern". Sie lösen bei den Männchen eine Orientierungsreaktion aus und erleichtern so das Auffinden des Weibchens. Speziell für Nachtfaltermännchen bedeutet das weibliche Sexualpheromon die hauptsächliche Möglichkeit zur Auffindung des Weibchens. Das Sexualpheromon spielt hier eine entscheidende Rolle für die Arterhaltung.

I.3. Das Vorkommen von Pheromonen

Pheromone sind nicht nur auf Insekten beschränkt, auch andere Lebewesen, wie z.B. Krebse, Fische und Säugetiere benutzen Pheromone zur Informationsübertragung ³⁾.

Selbst beim Menschen postuliert man das Vorkommen von Pheromonen ⁴⁾. Auch bei niederen Pflanzen wie z.B. Algen und Moosen konnten Pheromone nachgewiesen werden ⁵⁾.

I.4. Bedeutung von Pheromonen für die Umwelt

Die Sexualpheromone der Insekten sind nicht nur für den Verhaltensforscher interessant. Durch die auf der ganzen Welt immer schärfer werdenden Umweltschutzbestimmungen bietet sich durch die Kenntnis der Pheromone eine neue mögliche Art der Schädlingsbekämpfung an. Bei der heute üblichen Anwendung von Pestiziden hat sich herausgestellt, daß nicht alle Individuen einer Population gleich empfindlich für das angewendete Insektizid sind. Einige überleben und werden zu Stammeltern einer neuen, jedoch resistenten Generation. Deren Bekämpfung erfordert entweder ein neues Insektizid oder günstigenfalls eine Erhöhung der Dosis.

Als weiterer Nachteil der heutigen Schädlingsbekämpfung muß ihre Unspezifität angesehen werden. Flächenhaft angewandte Insektizide töten nicht nur Schadinsekten, sondern auch nützliche Tiere.

Pheromone dagegen können spezifisch gegen eine Schadinsektenart eingesetzt werden und die Umwelt würde nicht weiter mit unnatürlichen Schadstoffen belastet, über deren Spätfolgen man heute noch nichts Genaues aussagen kann.

Weiterhin scheinen Pheromone auch in geruchsphysiologischer Hinsicht interessante Verbindungen zu sein. Durch das Studium des Reizleitungsmechanismus und die Untersuchungen darüber, was beim Auftreffen eines Duftmoleküls auf eine Sinneszelle in der Zelle selbst und im Zentralnervensystem geschieht, könnten sehr wahrscheinlich weiterführende Erkenntnisse in der Sinneswahrnehmung des Riechens gewonnen werden.

Auch zur Erforschung der Evolution können Pheromone herangezogen werden ⁶⁾ ⁷⁾ ⁸⁾. So sind z.B. die Pheromondrüsen aller untersuchten Lepidopterenweibchen gleichartig gebaut. Auch von der chemischen Struktur her betrachtet, zeigen die aufgeklärten Lepidopteren-Lockstoffe große Ähnlichkeit untereinander.

II. Die Isolation von Insekten-Sexualpheromonen

Bis heute sind vier verschiedene Methoden der Isolation von Insektenpheromonen bekannt.

1. Abschneiden der Duftdrüsen und Lösungsmittel-extraktion mit Dichlormethan oder Dichloraethan, Ausfällen inaktiver Lipide mit Aceton bei tiefer Temperatur, anschließend Säulen- und Gaschromatographie ⁹⁾ ¹⁰⁾ ¹¹⁾. (Biologische Kontrollen werden später erwähnt).
2. Einfaches Schwenken der Duftdrüsen in Aether, Trocknen der Lösung mit wasserfreiem Magnesiumsulfat, Einengen mit Hilfe eines trockenen Stickstoffstromes, anschließend Gaschromatographie ¹²⁾.
3. Durchsaugen von Luft durch einen geschlossenen Behälter mit Tieren, Kondensieren der von den Tieren abgesonderten flüchtigen Substanzen mit Hilfe von flüssigem Stickstoff, Abdampfenlassen bei - 80°C und Aussalzen des Gemisches aus organischem Material und Wasser mit einem Überschuß an Kochsalz, mehrmaliges Ausschütteln mit Aether, dann Trocknen mit Natriumsulfat und sorgfältiges Einengen des Aethers, anschließend daran Gaschromatographie ¹³⁾.

4. Durch einen geschlossenen Behälter mit Tieren schickt man Luft, die auf einer mit Porapak Q gefüllten Säule filtriert wird. Anschließend Extraktion im Soxhlet Extraktor mit redestiliertem n-Pentan und GC-Analyse ¹⁴⁾.

III. Bestimmung der biologischen Aktivität

Nachdem durch chromatographische Verfahren eine Auftrennung des komplexen Stoffgemisches erreicht ist, müssen die einzelnen erhaltenen Fraktionen auf ihre biologische Wirksamkeit hin untersucht werden. Nach der Strukturaufklärung muß das entsprechende synthetische Substanzgemisch dem gleichen biologischen Test unterworfen werden, um Aussagen über die Pheromonwirkung machen zu können. Bis heute sind mehrere biologische Verhaltenstests erprobt und ausgearbeitet worden.

III.1. Der Schwirrtest

Zum ersten Mal erkannten Butenandt ¹⁵⁾ und Eiter ¹⁶⁾ bei der Isolierung und Aufklärung des Bombycols ((Z,E-10,12-Hexadecadienol-(1)) die Notwendigkeit eines biologischen Tests. Bei der Synthese des Bombycols können vier verschiedene geometrische Isomere auftreten, von denen nur eines Lockstoffwirkung auf das Seidenspinnermännchen zeigt ¹⁷⁾ ¹⁸⁾. Die genannten Autoren benutzten das typische Flügelschwirren des Seidenspinnermännchens als Antwort auf einen Lockstoffreiz. Die erhaltenen Werte wurden in Lockstoffeinheiten (LE) ausgedrückt. Als Lockstoffeinheit LE wird diejenige Konzentration des Lockstoffes in $\mu\text{g/ml}$ Lösungsmittel (Petroläther) definiert, die bei 50% der Versuchstiere durch Vorhalten eines mit der Lösung benetzten Glasstabes in ca. 1 cm Abstand von den Antennen ein eindeutiges Schwirren hervorruft.

Eine Modifizierung dieses Verhaltenstests findet man bei Kaissling und Priesner ¹⁹⁾. Hier dient als Duftquelle ein Filterpapier, das mit einer bekannten Bombycolmenge getränkt ist. Wird ein definierter Luftstrom über dieses Filterpapier auf die Antennen des Seidenspinnermännchens geblasen, so kommt es durch das Schwirren des Versuchstiers zu Vibrationen der Unterlage, die mit dem Tonkopf eines Plattenspielers in Verbindung steht. Schwingungen können auf diese Weise mechanisch registriert werden.

III.2. Der Olfaktometer-Test

Im Olfaktometer steht das Testobjekt (Insekt) vor eine "Ja-Nein"-Entscheidung. Ein Olfaktometer besteht aus zwei oder mehreren parallel geschalteten Kammern, die mit hochgereinigten Luftströmen gleicher Strömungsgeschwindigkeit durchblasen werden. Bringt man nun in die Luftströmung verschiedene Testsubstanzen, so haben die Versuchstiere die Wahl zwischen mit verschiedenen Duftstoffen beschickten Kammern ²⁰⁾. Im Idealfall zwischen der Kammer mit dem Lockstoff und der "Leerkammer", die als Kontrolle dient. Je stärker die anlockende Wirkung eines Duftstoffes ist, umso mehr Tiere werden in die entsprechende Kammer kriechen. Mit dieser Versuchsanordnung ist sogar eine Unterscheidung zwischen Lockstoff und "repellent" möglich. "repellent" nennt man eine Substanz oder ein Substanzgemisch, das bei Versuchstieren Fluchtreaktionen auslöst.

Eine Variante des Olfaktometers ist das Y-Rohr. Hier wird in einen Schenkel des Rohres ein lockender Duftstoff eingebracht, der andere Schenkel ist leer. Saugt man Luft durch die Versuchsanordnung, so wird sich der Großteil der Tiere in den Schenkel des Rohres begeben, der den Duftstoff enthält. Durch eine Zählung der Tiere ist die Wirkung einfach zu überprüfen.

III.3. Elektrophysiologische Ableitungen

Während die Isolierung und Strukturaufklärung des Bombycols noch in vollem Gange waren, begann Schneider ²¹⁾ mit elektrophysiologischen Untersuchungen an den Antennen des Seidenspinnermännchens.

Die Antennen sind Träger der Geruchsorgane. Das Riechen als chemorezeptorischer Vorgang, wird zweckmäßigerweise in drei verschiedene funktionelle Prozesse unterteilt.

1. Lokale Prozesse an der Rezeptor-Zellmembran, die zur Ausbildung eines Rezeptorpotentials führen, das sich vom Ruhepotential unterscheidet.
2. Integration der neuen Rezeptorpotentiale und Bildung der primären, nervösen Impulsmeldung.
3. Zentralnervöse Prozesse, die schließlich zu einer motorischen Reaktion führen.

Punkt 1 soll am Beispiel des Lockstoffes des Seidenspinners näher erläutert werden.

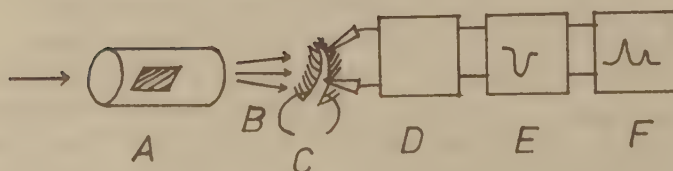
Die Duftmoleküle erreichen die Sensillen (Riechhaare) auf den Antennen, werden dort adsorbiert und diffundieren durch Poren in das Innere des Riechhaares zum Dendriten (Ausläufer einer Riechzelle). Dort treten sie mit spezifischen Rezeptoren in der Dendritenmembran in Wechselwirkung. Diese Wechselwirkung (wahrscheinlich Ausbildung eines Duftstoffmolekül-Rezeptor-Komplexes) bewirkt möglicherweise eine sterische Veränderung in der Membran. Dadurch entsteht die Möglichkeit zum Ausgleich des bestehenden Ungleichgewichtes zwischen den Ionen außerhalb und innerhalb der Membran. Dieser elektrochemische Membraneffekt wird in eine physiologische Antwort umgewandelt.

Danach wird der Lockstoff entweder desorbiert oder abgebaut. Der Rezeptor nimmt seine ursprüngliche Lage wieder ein und das Ruhepotential baut sich erneut auf.

Führt man nun Mikroelektroden in die Antenne ein, so kann man diese Potentialänderung über entsprechende elektronische Schaltungen messen. Auf diese Weise entsteht das "Elektroantennogramm (EAG)".

Bei der EAG-Messung ist die Amplitude des aufgefundenen Signals Meßgröße. Je höher diese Amplitude ist, umso stärker hat das Tier auf den Duftstoff reagiert. Im Arbeitskreis Schneider ist diese Methode in den letzten Jahren so verfeinert worden, daß nicht nur eine Summenableitung aller Zellen, die zwischen den Elektroden liegen, möglich ist, sondern auch die Einzelzellableitung. Sie wird mit Hilfe von Mikrokapillarelektroden an einzelnen Sinneszellen durchgeführt ^{19) 22)}.

Abb.1 Schematischer Versuchsaufbau zur EAG-Messung



A: Duftquelle, B: Luftstrom (beladen mit Duftmolekülen)
C: Antenne mit Elektroden, D: Elektronischer Verstärker
E: Oszillograph, F: Schreiber

III.4. Der Freiland-Test

Die endgültige Entscheidung, ob eine als Lockstoff postulierte Verbindung tatsächlich Lockstoff ist, kann nur der Freiland-Test bringen.

Wie groß die Gefahr der Fehleinschätzung sonst ist, zeigen Untersuchungen aus dem Arbeitskreis Roelofs ²³⁾. Im Labor aktive Substanzen erwiesen sich im Freiland-Versuch als völlig unwirksam. Auch im EAG hochaktive Substanzen können im Freiland-Versuch zu völlig umgekehrten Ergebnissen führen. Angeführt sei hier das (Z)-9-Dodecenyl-1-acetat, das sich im EAG beim Männchen des Kiefernknospentriebwicklers (*Rhyacionia buoliana*, Tortricidae) als hochaktiv erwies ²⁴⁾. Lange ²⁵⁾ fand jedoch für dieses Acetat eine stark hemmende Wirkung auf die Männchen. Sie flüchteten im Freiland vor dem ausgebrachten Stoff.

Diese beiden Beispiele mögen zeigen, wie wichtig der Freiland-Test ist. Von allen bisher erwähnten Testmethoden ist der Freilandversuch aber auch am schwierigsten durchzuführen. Alle erzielten Fangergebnisse sind nämlich aufgrund sehr schwer kontrollierbarer Umwelteinflüsse fast nicht reproduzierbar. Zu diesen Einflüssen zählen Temperatur ²⁶⁾, Tageszeit ²⁷⁾, das Alter der Tiere ²⁸⁾, sowie Licht- ¹⁰⁾ und Windverhältnisse ²⁹⁾. Hinzu kommen eingesetzte Pheromonmenge und ihre Verbreitung durch bestimmte Trägermaterialien ^{30) 31)} oder Solventien ³²⁾, sowie Art und Farbe der verwendeten Fallen ³⁰⁾.

Ein wichtiger Gesichtspunkt für die erfolgreiche Durchführung von Freilandversuchen ist auch die Reinheit der eingesetzten Pheromonproben. Geringe, oft synthesebedingte Verunreinigungen können unter Umständen die Wirksamkeit eines Pheromons völlig blockieren ³³⁾. Sehr oft genügen hier schon wenige Prozente eines geometrischen Isomeren des Lockstoffes ³⁴⁾. Andererseits können gewisse Beimengungen oftmals Verbesserungen der Fangergebnisse im Freilandversuch bewirken ^{35) 36)}.

Auch im Laborversuch können definierte Substanzgemische die Empfindlichkeit im biologischen Test wesentlich erhöhen ³⁷⁾.

Obwohl vieles für Substanzgemische als synergistische bzw. antagonistische Wirkstoffe spricht, bedarf es hier noch einer gründlichen Untersuchung, da sich besonders in diesem Punkt die Literatur häufig widerspricht.

IV. Die chemische Konstitution von Sexualpheromonen weiblicher Lepidopteren

Betrachtet man viele in der Literatur als Pheromone von Lepidopteren bekanntgewordene Verbindungen, so fällt auf, daß es sich beim weiblichen Tier fast ausschließlich um langkettige, ungesättigte Acetate, Alkohole oder Aldehyde handelt.

Tabelle 1a: Identifizierte Komponenten weiblicher Sexualpheromone von Lepidopteren

Tier	Familie	identifizierter Stoff	Lit.
Achroia grisella	Pyralidae	Undecanal (Z)-11-Octa- decenal	38)
Adoxophyes orana	Tortricidae	(Z)-9-Tetrade- cenylacetat (Z)-11-Tetrade- cenylacetat	37)

Fortsetzung Tabelle 1a

Tier	Familie	identifizierter Stoff	Lit.
Adoxophyes reticulana	Tortricidae	(Z)-9-Dodecenyl- acetat (Z)-11-Dodece- nylacetat	39)
Anagasta kuehniella	Pyralidae	(Z)-9, (E)-12-Te- tradecadienyl- acetat	40)
Ancylis spectrana	Tortricidae	(Z)-9-Tetrade- cenylacetat (Z)-11-Tetrade- cenylacetat	41)
Archips podana	Tortricidae	(Z)-11-Tetrade- cenylacetat (E)-11-Tetrade- cenylacetat	42)
Archips semiferanus	Tortricidae	(Z)-10-Tetrade- cenylacetat	43)
Argyroploce leucotreta	Tortricidae	(E)-7-Dodecenyl- acetat	44)
Argyrotaenia velutinana	Tortricidae	(Z)-11-Tetrade- cenylacetat	45)

Fortsetzung Tabelle 1a

Tier	Familie	identifizierter Stoff	Lit.
Autographa californica	Noctuidae	(Z)-7-Dodecenyl- acetat	46)
Bombyx mori	Bombycidae	(Z)-10,(E)-12- hexadecadienol	15)
Cadra cautella	Pyralidae	(Z)-9-Tetradecenyl- acetat (Z)-9,(E)-12-Tetradecadienyl- acetat	47)
Cadra figulella	Pyralidae	(Z)-9,(E)-12-Tetradecadienyl- acetat	48)
Choristoneura fumiferana	Tortricidae	(E)-11-Tetradecenyl- al	49)
Choristoneura rosaceana	Tortricidae	(Z)-11-Tetradecenyl- acetat	50)
Clepsis spectrana	Tortricidae	(Z)-9-Tetradecenyl- acetat (Z)-11-Tetradecenyl- acetat	41)
Diparopsis castanea	Noctuidae	Dodecylacetat (E)-9-Dodecenyl- acetat 11-Dodecenylacetat (E)-9,11-Dodecadienyl- acetat	51)

Fortsetzung Tabelle 1a

Tier	Familie	identifizierter Stoff	Lit.
Ephestia elutella	Pyralidae	(Z)-9, (E)-12-Tetradecadienylacetat	52)
Galleria melonella	Pyralidae	Nonanal Undecanal	53)
Grapholita molesta	Tortricidae	(Z)-8-Dodecenylacetat	54)
Heliothis virescens	Heliothitidae	(Z)-9-Tetradecenal (Z)-11-Hexadecenal (Z)-9-Tetradecenylformiat	55) 56)
Heliothis zea	Heliothitidae	(Z)-9-Tetradecenylformiat	56)
Holomelina immaculata	Arctiidae	2-Methylheptadecan	57)
Laphygma exigua	Noctuidae	(Z)-9, (E)-12-Tetradecadienylacetat	58)
Laspeyresia pomonella	Tortricidae	6 verschiedene Verbindungen	59)

Fortsetzung Tabelle 1a

Tier	Familie	identifizierter Stoff	Lit.
Lobesia botrana	Tortricidae	(E)-7, (Z)-9-Dode- cadienylacetat	60)
Lymantria dispar	Lymantriidae	(Z)-7,8-Expoxy- 2-methyloctadecan	61)
Nudaurelia cytherea	Saturniidae	(Z)-5-Decenyl-3- methylbutanoat	62)
Ostrinia nubilalis	Pyralidae	(Z)-11-Tetradec- nylacetat	63)
Paralobesia viteana	Tortricidae	(Z)-9-Dodecenyl- acetat	36)
Pectinophora gossypiella	Gelichiidae	(Z)-7, (Z)-11- Hexadecadienyl- acetat (Z)-7, (E)-11- Hexadecadienyl- acetat	64)
Platynota idaensalis	Tortricidae	(E)-11-Tetrad- cenol (E)-11-Tetradec- nylacetat	65)
Platynota stultana	Tortricidae	(E)-11-Tetrad- cenol (E)-11-Tetradec- nylacetat	66)

Fortsetzung Tabelle 1a

Tier	Familie	identifizierter Stoff	Lit.
Plodia interpunctuella	Pyralidae	(Z)-9,(E)-12-Te- tradecadienyl- acetat auch (Z)-8,(E)-12-Te- tradecadienol	67)
Prodenia eridiana	Noctuidae	(Z)-9-Tetradec- enylacetat (Z)-9,(E)-12-Te- tradecadienyl- acetat	68)
Pseudoplusia includens	Noctuidae	(Z)-7-Dodecenyl- acetat	69)
Pyrrharctia isabella	Arctiidae	2-Methylhepta- decan	70)
Rhyacionia buoliana	Tortricidae	(E)-9-Dodecenyl- acetat	71)
Sanninoidea exitiosa	Aegeriidae	(Z)-3,(Z)-13- Octadecadienyl- acetat	72)
Sitotroga cerealella	Gelichiidae	(Z)-7,(E)-11- Hexadecadienyl- acetat	73)

Fortsetzung Tabelle 1a

Tier	Familie	identifizierter Stoff	Lit.
Spodoptera dolichos	Noctuidae	(Z)-9,(E)-12-Tetra- decadienyl- acetat	74)
Spodoptera eridiana	Noctuidae	(Z)-9,(E)-12-Tetra- decadienyl- acetat (Z)-9-Tetradec- nylacetat	58)
Spodoptera exigua	Noctuidae	(Z)-9,(E)-12-Tetra- decadienyl- acetat	58)
Spodoptera frugiperda	Noctuidae	(Z)-9-Tetradec- nylacetat	75)
Spodoptera littoralis	Noctuidae	(Z)-9,(E)-11-Tetra- decadienylacetat (Z)-9,(E)-12-Tetra- decadienylacetat Tetradecylacetat (Z)-9-Tetradecenyl- acetat (Z)-11-Tetradec- nylacetat	51)
Spodoptera litura	Noctuidae	(Z)-9,(E)-11-Tetra- decadienylacetat (Z)-9,(E)-12-Tetra- decadienylacetat	76) 77)

Fortsetzung Tabelle 1a

Tier	Familie	identifizierter Stoff	Lit.
Synanthedon pictipes	Aegeriidae	(E)-3,(Z)-13- Octadecadienyl- acetat	72)
Trichoplusia ni	Noctuidae	(Z)-7-Dodecenyl- acetat	78)

Tabelle 1b: Duftsekrete männlicher Lepidopteren

Amauris	Noctuidae	Ketone	79)
Apamea monoglypha	Noctuidae	Pinocarvon	80)
Bapta termata	Geometridae	Buttersäure	80)
Danaus species	Danaidae	Dihydropyrro- lizine	81)
		Benzylcapronat	82)
Leucania species	Noctuidae	Benzylalkohol Isobuttersäure	80)
Mamestra persicaria	Noctuidae	Phenyläethyl- alkohol Benzaldehyd Benzylalkohol	80)

Fortsetzung Tabelle 1b

Tier	Familie	identifizierter Stoff	Lit.
Phlogophora meticulosa	Noctuidae	6-Methyl-5-hep- ten-2-on 6-Methyl-5-hep- ten-2-ol 2-Methylbutter- säure	80)
Polia nebulosa	Noctuidae	Phenylaethyl- alkohol Benzaldehyd Benzylalkohol	80)
Pseudaletia separata	Noctuidae	Benzaldehyd	83)
Pseudaletia unipuncta	Noctuidae	Benzylalkohol Benzaldehyd Benzoessäure	84)

Über Lockstoffe von weiblichen Lepidopteren und chemisch verwandten Verbindungen wurden im Arbeitskreis Bestmann in den letzten Jahren ausführliche synthetische Arbeiten durchgeführt 85) 86) 87) 88) 89) 90).

In Zusammenarbeit mit Jacobson und Priesner konnten in jüngster Zeit auch neuere Modellvorstellungen über die Wechselwirkung von Lockstoffmolekülen und Rezeptor gewonnen werden 91).

Ergänzend zum synthetischen Programm werden nun seit kurzem im gleichen Arbeitskreis auch analytische Untersuchungen durchgeführt. Durch die Fülle an synthetischen Verbindungen, die zur Verfügung steht, bietet sich für analytische Arbeiten genügend Material, um neue Methoden zur Strukturaufklärung von Pheromonen zu entwickeln.

B. EIGENE ARBEITEN

I. Analytische Problemstellung

Aus der Literatur ist bekannt, daß bei allen bisher untersuchten Insekten die Lockstoffproduktion beim Weibchen zwischen 1 und 5 ng beträgt. Um eine gesicherte Identifikation des gesuchten Stoffs zu erreichen, sind grundsätzlich zwei Möglichkeiten denkbar.

1. Man verwendet eine möglichst große Anzahl von Tieren. Als Nachteil hat man dabei aber sehr viele verlustreiche Reinigungsschritte bis zur eigentlichen Isolierung und Identifizierung durchzuführen.
2. Nur wenige Tiere werden verwendet. Dadurch ist das Reinigungsproblem geringer, aber nun müssen geeignete Analysenmethoden zur Verfügung stehen, um zu einem richtigen Ergebnis zu gelangen.

In den letzten Jahren hat sich die Analytik immer mehr auf das zweite Verfahren verlegt. Das erste Insekt, dessen Lockstoff aufgeklärt wurde war *Bombyx mori* ¹⁵⁾. Es hatte für den Wissenschaftler den Vorteil, als "Haustier" in praktisch unbegrenztem Maße zur Verfügung zu stehen. Der Seidenspinner war also ein Idealfall zur Aufklärung eines Insektenlockstoffs.

Butenandt hat im Laufe der Strukturermittlung des Bombycols etwa 10^6 Tiere bzw. Drüsen afugearbeitet. Alle anderen Insekten, deren Lockstoffe in der Zwischenzeit aufgeklärt worden sind, sind freilebend. Für Analytiker bedeutet dies, daß nur eine begrenzte Anzahl an Untersuchungsobjekten zur Verfügung steht. Deshalb scheint es angebracht, zunächst anhand von Modellverbindungen eine allgemein brauchbare Detektionsmethode zu erarbeiten.

I.1. Material und Methode

Als Modellsubstanzen für Lepidopteren-Sexuallockstoffe wurden folgende Verbindungsklassen ausgewählt:

1. (Z)-9-Alkenole-(1)
2. (Z)-9-Alkenyl-1-formiate
3. (Z)-9-Alkenyl-1-acetate
4. (Z)-9-Alkenyl-1-propionate
5. (Z)-9-Alkensäuremethylester
6. (Z)-9-Alkensäureaethylester
7. (Z)-11-Alkenyl-1-acetate
8. 1,(Z)-11-Alkadiene
9. 1-Alkanole
10. 1-Alkylacetate
11. (Z)-9-Alkenale
12. Alkansäureaethylester

Ergänzend dazu kamen zwei ungesättigte Alkohole mit der Doppelbindung in Position 7 und die entsprechenden Carbonsäureaethylester. Aus der Reihe der doppelt ungesättigten Verbindungen wurden der (Z)-9,11-Dodecadiensäuremethyl- und -aethylester chromatographiert. Sie waren Vertreter für konjugierte Doppelbindungen. Als Prototypen für zwei isolierte Doppelbindungen standen das (Z,E)-9,12-Tetradecadienol-(1), der (Z,E)-9,12-Tetradecadiensäuremethylester und das (Z,E)-9,12-Tetradecadienyl-1-acetat zur Verfügung.

Im Rahmen der Arbeit wurden zusätzlich Vertreter mit der Doppelbindung in Position 6, nämlich (Z)-6-Dodecenol, (Z)-6-Dodecensäureäthylester und (Z)-6-Dodecenyl-1-acetat hergestellt. Die Beschreibung der entsprechenden Synthesen erfolgt im präparativen Teil (V.2.).

Zusätzlich zu den bisher erwähnten Verbindungen kamen noch Alkohole mit der Doppelbindung in Position 11 und die Carbonsäureester des (Z)-9-Hexadecenol-(1) mit Buttersäure und Valeriansäure.

I.1.1. Dünnschicht-Chromatographie

Zur Bestimmung der Erfassungsgrenzen mit Hilfe der Dünnschicht-Chromatographie kamen Fertigplatten der Firma Merck zur Verwendung. Ihre Maße waren 20 x 20 cm, Schichtdicke 0,25 mm, Kieselgel 60F₂₅₄.

Für präparative Arbeiten wurden Platten der gleichen Größe verwendet jedoch betrug hier die Schichtdicke 2 mm.

Zur Trennung von (Z)- und (E)-Isomeren-Verbindungen wurden diese Platten mit einer 30%igen, wäßrigen Silbernitratlösung imprägniert. Dabei wurden drei verschiedene Verfahren erprobt:

1. Besprühen der Platte
2. Eintauchen der Platte
3. Aufsaugen der Lösung

Dabei erwiesen sich die ersten beiden Methoden als ungünstig. Beim ersten Verfahren verteilte sich das Silbernitrat nicht gleichmäßig auf der Platte; darunter litt die Trennleistung und die Zonen wanderten ungleichmäßig. Bei der zweiten Methode trat durch das Eintauchen starke Adsorptionswärme auf, so daß durch starkes Überhitzen Risse in der Platte entstanden. Diese Nachteile konnten durch Verwendung der

dritten Methode umgangen werden. Nach dem Aufsaugen der Lösung, das wie alle Arbeiten mit silbernitratimprägnierten Platten im Dunkeln durchzuführen ist, wurde die Platte bei Raumtemperatur eine halbe Stunde vorgetrocknet. Anschließend erfolgte dann die Hauptbehandlung durch zweistündiges Erhitzen im Trockenschrank bei 110°C . Durch diese Trocknung wird die Platte auch gleichzeitig wieder aktiviert. Bei diesem Vorgang ist es wichtig, für eine langsame Temperatursteigerung zu sorgen, da bei zu großen Temperaturintervallen Risse in der Platte auftreten. Laufmittel für die silbernitratimprägnierten Platten war Benzol. Für alle anderen dünn-schichtchromatographischen Untersuchungen wurde bei gesättigter Kammer das Laufmittelsystem n-Hexan/Aether = 5 : 1 (v/v) verwendet. Die Laufstrecke betrug für alle DC-Platten etwa 14 cm. Die Auswertung erfolgte im UV-Licht bei 254 nm. Für die silbernitratimprägnierten Platten war eine besondere Auswertungsmethode erforderlich, da durch das aufgesaugte Silbernitrat der Fluoreszenzindikator in der Plattenschicht verdeckt wurde. Man besprühte die Platte am Rand etwa 2 cm breit mit Schwefelsäure, während der übrige Teil der Platte durch eine Glasscheibe abgedeckt blieb. Anschließend erfolgte ein fünfminütiges Erhitzen im Trockenschrank auf 110°C . Nach dieser Zeit waren die Zonen optimal sichtbar. Längeres Erhitzen sollte bei silbernitratimprägnierten Platten, die mit Schwefelsäure behandelt wurden, vermieden werden, da leicht eine Überoxidation zu CO_2 auftreten kann ⁹²⁾. Die Chromatographie mit silbernitratbeschichteten Platten führt zusammenfassend zu folgenden Ergebnissen:

1. Die Trennung beruht auf der Bildung von Komplexen der Ag^+ -Ionen mit den π -Elektronen der Doppelbindung.
2. Je mehr Doppelbindungen im Molekül vorhanden sind, umso kleiner werden die R_f -Werte bei der Chromatographie.

3. Konfiguration und Lage der Doppelbindung spielen eine wichtige Rolle. Die (Z)-Konfiguration ergibt eine stärkere Adsorption als die entsprechende (E)-Konfiguration.
4. Bei mehrfach ungesättigten Verbindungen spielt die Verteilung der Doppelbindungen über das Molekül eine wesentliche Rolle. Je weiter die Doppelbindungen von einander entfernt liegen, umso stärker wirkt die Adsorption, d.h. umso kleiner wird der R_f -Wert.

Die Trennungsmethode mit Hilfe von Ag^+ -Ionen ist besonders für diejenigen ungesättigten Verbindungen geeignet, in denen die anderen Gruppen im Molekül nur einen geringen Einfluß auf die Adsorption ausüben ⁹³⁾.

Auch in der Gaschromatographie wurde die Imprägnierung mit Silbernitrat bereits erfolgreich angewendet ⁹⁴⁾.

I.1.2. Gaschromatographie

Für die Identifizierung GC-getrennter Stoffe stehen prinzipiell verschiedene Möglichkeiten zur Verfügung ^{95) 96) 97)}, die je nach Zusammensetzung und Kenntnis der Analysenmischung einzeln oder kombiniert eingesetzt werden müssen, um zu eindeutigen Resultaten zu führen.

I.1.2.1. Auswertung gaschromatographischer Retentionswerte

Die am häufigsten angewendete Methode bei der Auswertung gaschromatographischer Retentionswerte ist der Vergleich von Retentionszeiten unter konstanten apparativen Bedingungen oder die Co-Chromatographie mit authentischen Vergleichssubstanzen.

Durch Verwendung mehrerer verschieden polarer Trennsäulen lassen sich mit Hilfe dieser Methodik bereits weitreichende Aussagen machen.

Voraussetzung dafür ist eine gewisse Kenntnis der Probenzusammensetzung. Der Vergleich mit tabellierten Retentionszeiten bzw. Retentionsvolumina ist eine weitere Möglichkeit, wenn anstelle der Retentionszeiten bzw. Retentionsvolumina die sogenannten I-Werte nach Kováts - häufig auch Kováts-Indizes genannt - herangezogen werden ⁹⁸⁾.

I.1.2.2. Auswertung der Einzelkomponenten nach der GC-Trennung

Für eine diskontinuierliche oder kontinuierliche Untersuchung der einzelnen aus der Trennsäule eluierten Substanzen stehen chemische, weitere chromatographische und vor allem spektroskopische Verfahren zur Verfügung. Die weitaus größte Bedeutung kommt der kontinuierlichen massenspektrometrischen Untersuchung des GC-Eluats durch direkte apparative Kopplung von Gaschromatograph und Massenspektrometer zu. Gaschromatographischer Detektor ist hierbei der im Massenspektrometer entstehende Totalionenstrom.

I.1.2.3. Kombination GC - MS

Es gibt heute zwei grundlegende Verfahren der Massenspektrometrie, die in Kombination mit der GC angewendet werden. Das sind EI- und CI-Massenspektrometrie. Beim EI-Verfahren ("electron impact, Elektronenstoß") wird durch Separatoren das Trägergas nach dem Verlassen des Gaschromatographen entfernt und die eluierten Verbindungen in die Ionenquelle eingeschleust. Hier werden die getrennten Verbindungen durch Elektronenstoß ionisiert und dann ein Totalionenstromchromatogramm aufgenommen. Durch "scannen", d.h. in einer bestimmten Zeiteinheit, z.B. alle 5 Sekunden, wird vom Eluat ein Massenspektrum aufgenommen. Verläßt nun eine Substanz (angezeigt als "Peak") zu einer bestimmten Zeit die GC-Trennsäule, so wird sie unter einer bestimmten

"Scan-Nummer" auf dem ausgedruckten Chromatogramm registriert. Die "Scan-Nummer" ist so mit der Retentionszeit im Sinne der GC verknüpft.

Durch die Verwendung eines Computers ist es weiter möglich, von jeder "Scan-Nummer" ein vollständiges Massenspektrum ausdrucken zu lassen. Dies ist gegenüber der GC allein ein großer Vorteil. In der Gaschromatographie ist es ohne Kombination mit anderen Methoden fast nicht möglich, einen Peak zu identifizieren. Das Gaschromatogramm zeigt nur an, daß nach einer bestimmten Zeit eine Komponente den Detektor passiert hat. Wird gleichzeitig ein Massenspektrum ausgedruckt, so kann unter Umständen bereits daraus der Mol-Peak entnommen werden. Damit ist das Molekulargewicht der Verbindung bekannt. Das Fragmentierungsmuster erbringt zusätzliche Informationen über die Verbindungsklasse.

Das CI-Verfahren (chemische Ionisation), das erst in neuester Zeit in Kombination mit der GC angewendet wird, bringt noch größere Vorteile bei der Aufklärung von unbekannten Substanzen.

Nach Separierung des Trägergases (bei Verwendung von Kapillarsäulen fällt der Separator weg, dies gilt auch für EI-Verfahren) bringt man in die Ionenquelle ein Hilfsgas, meist Methan oder Isobutan, ein. Dieses Hilfsgas ist im großen Überschuß im Vergleich zur eluierten Substanzmenge aus dem Gaschromatographen vorhanden.

Die von der Ionenquelle ausgehenden Elektronen ionisieren in erster Linie das Hilfsgas. Das ionisierte Hilfsgas trifft nun seinerseits auf Substanzmoleküle, ionisiert diese und gibt an sie gleichzeitig ein Proton ab. Dies ist ein Charakteristikum für das CI-Verfahren. Man erhält keine M^+ -Peaks, sondern $M + 1^+$ -Peaks. Zusätzlich können bei Verwendung von Methan als Hilfsgas auch dessen Anlagerungspeaks auftreten. Durch die verhältnismäßig niedrige Energie, die bei der Ionisation auf das Substanzmolekül übertragen wird,

vereinfacht sich auch die Fragmentierung wesentlich. Man erhält fast immer den $M + 1^+$ -Peak und wesentlich weniger, dafür aber signifikantere Bruchstücke. Eine weitere Besonderheit, die mit heutigen GC-MS-Kombinationen durchgeführt werden kann, ist das sogenannte MID- oder auch MIS-Verfahren ("multiple ion detection bzw. multiple ion selection").

Sucht man eine bestimmte Verbindung und kennt man charakteristische Bruchstücke ihres Massenspektrums, so wird das Massenspektrometer auf diese Massen fest eingestellt. Das Gerät misst nur bei den vorgegebenen Massen bzw. den entsprechenden Beschleunigungsspannungen. Dadurch wird die Arbeitsgeschwindigkeit um etwa einen Faktor 100 erhöht. Auch die "Ionenausbeute" erhöht sich um den Faktor 100, denn es werden nur die gewünschten Massen angezeigt. Synchron damit läuft eine Steigerung der Nachweisgrenze um den Faktor 100. Etwa 50 pg gesuchte Substanz können mit diesem Verfahren noch gefunden werden.

Zusätzlich zu den erwähnten Methoden kann man mit Hilfe eines Computers ein sogenanntes Massenchromatogramm aufnehmen. Der Computer speichert alle aufgenommenen Massenspektren einer GC-Einspritzung. Auf Anfrage nach bestimmten Massen werden alle Massenspektren ausgedruckt, die diese Massen enthalten. Man kann durch dieses Verfahren aus vielen unbekannten Komponenten bekannte identifizieren.

I.1.2.4. Substanzidentifizierung mittels homologer Reihen

Bei gleicher Temperatur und gleicher stationärer Phase steigen die Retentionszeiten homologer Reihen logarithmisch mit der C-Zahl an. Da die Retentionszeit eine abhängige Größe ist - sie ändert sich mit der Strömungsgeschwindigkeit des Trägergases - ist es besser, an ihrer Stelle das Retentionsvolumen einzuführen.

Das Retentionsvolumen wird definiert als Produkt aus Strömungsgeschwindigkeit x Retentionszeit. Es hängt, bei gegebener stationärer Phase, nur noch von der Temperatur ab.

Da die Retentionsvolumina innerhalb homologer Reihen logarithmisch zunehmen, erscheint es für eine mathematische Behandlung angebracht, die Logarithmen der Retentionsvolumina zu verwenden. Bei Verwendung der Logarithmen erhält man folgende Gleichung

$$\log V_R = k \cdot C + b$$

k ist eine Proportionalitätskonstante, C gibt die Anzahl der Kohlenstoffatome an und b ist der Achsenabschnitt. Für jede homologe Reihe ergibt sich ein neues k und ein neues b. Das gilt ebenso für jede Temperatur und jede stationäre Phase. Die Gleichung bietet die Möglichkeit mit Hilfe des gemessenen V_R und bekannten k und b, die Größe C rechnerisch zu ermitteln.

Wendet man diese Gleichung auf Säulen unterschiedlicher Polarität an, so ergeben sich für die gleiche homologe Reihe zwei Werte für k und b. Sind die erhaltenen Werte für k und b auf zwei Säulen verschiedener Polarität unterschiedlich, so kann man aufgrund des errechneten Ergebnisses mit sehr großer Wahrscheinlichkeit die C-Zahl einer gegebenen Verbindung bestimmen.

I.1.3. Auswertung der chromatographischen Daten mittels Computer

Trägt man die Logarithmen der Retentionsvolumina für verschiedene homologe Reihen und verschiedene Säulen gegen die C-Zahl auf, so erhält man eine Geradenschar. Die verschiedenen Geraden dieser Schar unterscheiden sich in Steigung und Achsenabschnitt. Sind nun die chromatographischen Daten, d.h. das Retentionsvolumen einer

unbekannten Verbindung, gemessen auf den gleichen Säulen wie die Eichwerte, bekannt, so kann man diese Verbindung dann genau einordnen, wenn sie zu einer der untersuchten homologen Reihen gehört. Dazu wird der bekannte Wert des Retentionsvolumens in jeder graphischen Darstellung aufgesucht. Anschließend vergleicht man, ob die zugehörige Abszisse eine ganze C-Zahl aufweist, denn nur eine ganze Zahl ist sinnvoll.

Ist das der Fall, so geht man mit dieser gefundenen C-Zahl in die entsprechende graphische Darstellung für die anderen Säulen. Stimmt die dabei gefundene Ordinate mit dem gemessenen Wert für die unbekannte Verbindung überein, so gehört diese Verbindung, im Rahmen der Meßgenauigkeit, zu einer der als Eichwerte gemessenen homologen Reihen. Je mehr Säulen verwendet werden, umso größer wird die Genauigkeit. Damit steigt aber auch die Menge an Eichwerten, mit denen die Meßwerte verglichen werden müssen. Eine Auswertung von Hand wird folglich immer langwieriger und umständlicher. Andererseits können alle verwendeten Rechenoperationen in logischer Reihenfolge nacheinander durchgeführt werden. Ziel aller dieser Operationen ist das Auffinden von Übereinstimmungen aus einer großen Zahl von Zahlenwerten. Der Computer ist in der Lage bei geeigneter Programmierung alle genannten Rechenschritte viel schneller durchzuführen.

Zur Auswertung standen die Meßdaten, die auf zwei Säulen unterschiedlicher Polarität gefunden wurden, zur Verfügung.

I.1.3.1. Erstellung des Programms

Das verwendete Rechenprogramm wurde in FORTRAN IV erstellt. Es gliedert sich in fünf Teile:

1. Einlesen sämtlicher Werte für alle zwölf homologen Reihen
2. Erstellen der bestmöglichen Geraden für jede homologe Reihe nach der Formel $\log V_R = k \cdot C + b$
3. Einlesen der Meßwerte
4. Vergleichen für welche homologe Reihe zwei Meßwerte übereinstimmen
5. Ausdrucken der übereinstimmenden Meßwerte unter Angabe von C-Zahl, homologer Reihe und Peak-Nummer auf den ausgewerteten Chromatogrammen.

Computerprogramm:

```
DIMENSION C(6),T(6),V(6),A(15,3),B(15,3),TREN(3),HRN(100),
X      CZN(100),HCD(3)
INTEGER C,Y,H,HRN,CZN
DATA TREN/'NT-1','TC-2','TT-3'/,HCD/'NT-1','TC-2','TT-3'/
I=0
1 I=I+1
  CALL SSWTCH(3,N3)
  DO 3 J=1,3
    READ(2,50) N
    DO 2 K=1,N
      READ(2,52) C(K),T(K)
2 V(K)=ALOG10(T(K)*40.0)
  SD=0.0
  SP=0.0
  SDD=0.0
  SDP=0.0
  RM=0.0
  DO 4 K=1,N
    SD=SD+C(K)
    SP=SP+V(K)
    SDD=SDD+C(K)**2
    SDP=SDP+C(K)*V(K)
4 CONTINUE
  ZL=N
  PMI=SP/ZL
  A(I,J)=(SD*SP-ZL*SDP)/(SD*SD-ZL*SDD)
  B(I,J)=(SD*SDP-SP*SDD)/(SD*SD-ZL*SDD)
  DO 5 K=1,N
5 RM=RM+(V(K)-A(I,J)*C(K)-B(I,J))**2
  IF (N.EQ.2) GOTO 7
  RMS=(RM/(ZL-2.0))**0.5/PMI
```

Fortsetzung Computerprogramm:

```
GOTO 8
7 RMS=1.0
8 IF(N3.EQ.1) WRITE(1,53) I,HCD(J)
  CALL SSWTCH(4,N4)
  GOTO (13,3),N4
13 IF(N3.EQ.1) WRITE(1,59)
  DO 9 K=1,N
9 IF(N3.EQ.1) WRITE(1,54) T(K),V(K),C(K)
3 IF(N3.EQ.1) WRITE(1,55) A(I,J),B(I,J),RMS
  L=I
  READ(2,50) N1
  GOTO (1,10),N1
10 WRITE(1,57)
  READ(1,58) DV
  WRITE(1,103)
  READ(1,58) DC
  WRITE(1,104)
  READ(1,58) DL
11 READ(2,66) N
  READ(2,50) J
  J=1
  WRITE(1,67)
  Y=0
  DO 16 M=1,N
  READ(2,60) D
  W=ALOG10(D*0.4*40.0)
  W1=ALOG10((D-DV)*0.4*(40.0-DC))-DL
  W2=ALOG10((D+DV)*0.4*(40.0+DC))+DL
  CALL SSWTCH(2,N2)
  CALL SSWTCH(1,N1)
  GOTO (30,17),N2
30 WRITE(1,65) D,W,W1,W2
17 CONTINUE
  DO 16 I=1,L
  DO 16 K=8,35
  Q=K
  X=A(I,J)*Q+B(I,J)
  IF((X.LT.W1).OR.(X.GT.W2)) GOTO 16
  GOTO(40,41),N1
40 WRITE(1,61) M,X,I,K,TREN(J)
41 CONTINUE
  Y=Y+1
  HRN(Y)=I
  CZN(Y)=K
16 CONTINUE
  PAUSE 1
  READ(2,66) N
  READ(2,50) J
  WRITE(1,68)
  DO 24 M=1,N
  READ(2,60) D
  W=ALOG10(D*0.4*40.0)
  W1=ALOG10((D-DV)*0.4*(40.0-DC))-DL
  W2=ALOG10((D+DV)*0.4*(40.0+DC))+DL
```

Fortsetzung Computerprogramm:

```
GOTO(43,42),N2
43 WRITE(1,65)D,W,W1,W2
42 CONTINUE
DO 24 J=2,3
DO 24 I=1,L
DO 24 K=8,35
Q=K
X=A(I,J)*Q+B(I,J)
IF ((X.LT.W1).OR.(X.GT.W2))GOTO 24
DO 24 W=1,Y
IF((HRN(H).NE.I).OR.(CZN(H).NE.K)) GOTO 24
WRITE(1,61) M,X,I,K,TREN(J)
24 CONTINUE
WRITE(1,62)
PAUSE 12
CALL SSWTCH(1,N1)
IF(N1.EQ.1) GOTO 16
CALL SSWTCH(2,N2)
GOTO (15,20),N2
15 WRITE(1,63)
PAUSE 3
CALL SSWTCH(3,N3)
GOTO (10,11),N3
20 CONTINUE
50 FORMAT(I1)
51 FORMAT(1X,/,I2,/,3X,'NEUE HOMOLOGE REIHE :')
70 FORMAT(1X,2A2,2A2,/, ' ANZAHL DER EICHPKTE :')
52 FORMAT(I2,F5.2)
53 FORMAT(1X,'REIHE ',I2,4X,2A2,/)
54 FORMAT(1X,F5.2,6X,F6.3,4X,I2)
55 FORMAT(/,1X,'K1 =',F8.4,' K2 = ',F8.4,' RMS = ',F5.3,/)
56 FORMAT(1X,'N H R : SS 1')
57 FORMAT(1X,'FEHLERBALKEN 2*DV : ')
103 FORMAT(1X,'FEHLERBALKEN 2*DC : ')
58 FORMAT(F6.3)
59 FORMAT(1X,'T IN MIN LOG VR C-ZAHL',/)
71 FORMAT(1X,'M , T IN MIN : ')
60 FORMAT(F5.2)
65 FORMAT(1X,'T = ',F6.3,' KAE LOG VR = ',F6.3,
X ' OB.GR.: ',F6.3,' UNT.GR. : ',F6.3,2X,I1,/)
61 FORMAT(1X,I3,F7.3,2X,I3,2X,I3,3X,2A2)
62 FORMAT(1X,'NEUE MESSWERTE : NUR T : SS 1',/,18X,
X 'T & NT * SS 2')
63 FORMAT(1X,'NEUE FEHLERGRENZE : SS 3 :')
66 FORMAT(I2)
67 FORMAT(1X,'WERTE V.N.T.S.',/,
X 2X,'PN',3X,'L VR',4X,'HR',2X,'CZ',2X,'NT')
68 FORMAT(1X,'WERTE V.T.S.',/,
X 2X,'PN',3X,'L VR',4X,'HR',2X,'CZ',2X,' C/T')
104 FORMAT(1X,'LOG.FEHLER 2*DL : ')
STOP
END
```

I.2. Verwendete Geräte und stationäre Phasen

Gaschromatograph Hewlett-Packard 5750 mit Flammenionisationsdetektor

Einspritzblock: 220°C

Temperatur am FID: 250°C

Säulen: 10% OV-101 auf Chromosorb G HP, 100 bis 120 mesh,
in Glassäule, 1,80 m x 3 mm I.D. (unpolare Säule)

10% Silar-10C auf Gaschrom Q, 100 bis 120 mesh,
in Glassäule, 1,80 m x 3 mm I.D. (polare Säule)

Säulentemperatur: 170°C

Strömungsgeschwindigkeit: 40 ml N₂/min.

Empfindlichkeitseinstellung am Elektrometer für Eichwerte:
 1×10^3

für Gaschromatographie von Extrakten: 4×10

(Abweichende Daten werden im entsprechenden Kapitel gesondert erwähnt).

II. Spezielle Untersuchungen

II.1. Bestimmung von Erfassungsgrenzen mit Hilfe der Dünnschicht-Chromatographie

Als Modellsubstanzen für die Bestimmung der Erfassungsgrenzen wurden das (Z)-9-Dodecenyl-1-acetat und das (Z)-9-Tetradecenyl-1-acetat eingesetzt.

Von beiden Acetaten wurden folgende Konzentrationen in n-Hexan hergestellt:

5 µg/µl, 500 ng/µl, 50 ng/µl, 5 ng/µl und 0,5 ng/µl

Jeweils 1 µl von jeder Verdünnung wurde auf eine Dünnschichtplatte der Schichtdicke 0,25 mm punktförmig aufgetragen und bei Raumtemperatur entwickelt. Nach etwa

1 Stunde Laufzeit wurden die Platten herausgenommen und unter UV-Licht ausgewertet. Außer dem Startfleck waren keine weiteren Substanzflecke erkennbar.

Um festzustellen, ob durch das Trocknen im Luftstrom Substanzverlust eintrat, wurde der Versuch wiederholt.

Diesmal blieb die Dünnschichtplatte bei Raumtemperatur an der Luft liegen und wurde nach etwa 20 Minuten ausgewertet. Auch bei dieser Versuchsvariante war außer dem Startfleck kein weiterer Substanzfleck zu erkennen. Daraufhin wurden die Konzentrationen laufend gesteigert und erneut nach der angegebenen Methode chromatographiert. Erst bei einer Konzentration von 200 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ konnten beide Acetate auf der Dünnschichtplatte wiedergefunden werden. Der R_f -Wert betrug für das (Z)-9-Dodeceny-1-acetat 0,64, für das (Z)-9-Tetradeceny-1-acetat 0,69.

Bei einer Lockstoffproduktion von 5 ng pro Tier würde das bedeuten, daß 40.000 Tiere notwendig wären, um den gesuchten Stoff auf diese Weise zu finden. Da bei diesen hohen Tierzahlen die Reinigungsschritte einen relativ hohen Substanzverlust bringen würden, scheint die vergleichende Dünnschicht-Chromatographie mit Referenzsubstanzen nicht die geeignete Methode zu sein. Andererseits bietet sie sich aber als gute Vortrennungsmethode an, wenn man sie mit anderen analytischen Methoden kombiniert.

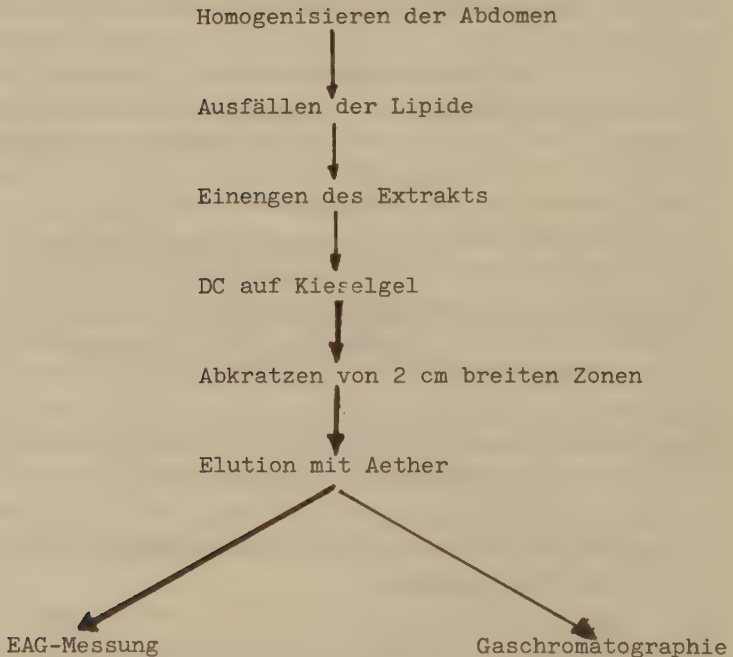
Zur Kombination mit der Dünnschicht-Chromatographie eignet sich die Gaschromatographie sehr gut.

II.2. Kombination Dünnschicht-Chromatographie und Gaschromatographie

Am Beispiel eines Extrakts aus 1000 weiblichen Abdomen des Kiefernknospentriebwicklers (*Rhyacionia buoliana*, Tortricidae) wurde eine neue analytische Methode erprobt.

Als Lockstoff der genannten weiblichen Tiere wurde im Jahre 1974 (E)-9-Dodecenyl-1-acetat identifiziert ⁷¹⁾. In unserem Extrakt konnte also gezielt nach einem bekannten Stoff gesucht werden.

Abb.2: Schematische Darstellung des Analysenganges für die Kombination DC - GC



II.2.1. Erklärung des Analysenganges

Die 1000 Abdomen wurden in Methylenchlorid homogenisiert, anschließend fällte man bei -60°C mit Aceton inaktive Lipide aus und filtrierte bei tiefer Temperatur ab. Die resultierende gelbe Lösung wurde auf etwa 3 ml eingeeengt und strichförmig auf eine präparative Dünnschichtplatte aufgetragen. Nach dem Trocknen der Platte bei Raumtemperatur wurden vom Startstrich aus sechs 2 cm breite Zonen abgekratzt. Das abgekratzte Kieselgel eluierte man mit je 10 ml Aether p.A. (Merck): Es erwies sich als vorteilhaft, jede Probe etwa 10 min. unter Rückfluß zu erhitzen. Nach sorgfältigem Abfiltrieren des Kieselgels wurde der Überstand am Rotationsverdampfer unter Vakuum auf etwa 1 ml eingeeengt. Der verbleibende Rest wurde in ein Probengläschen überführt und das erste Gefäß mit $2 \times 100 \mu\text{l}$ Aether nachgespült. Nun erfolgte Einengen im Stickstoffstrom auf etwa $50 \mu\text{l}$. Die so aufbereiteten Proben waren für die Gaschromatographie verwendbar. EAG-Messungen konnten nicht durchgeführt werden, da zu dieser Zeit keine männlichen Tiere zur Verfügung standen.

Von allen sechs Zonen wurde ein Gaschromatogramm aufgenommen. Als Vergleich wurde einmal reines (E)-9-Dodecenyl-1-acetat eingespritzt, außerdem wurde ein Chromatogramm des ungereinigten Extraktes im Gemisch mit (E)-9-Dodecenyl-1-acetat aufgenommen. Es stellte sich heraus, daß in Zone III und IV das (E)-9-Dodecenyl-1-acetat enthalten war.

Nummerierung der Zonen auf der DC-Platte:

Zone I: R_f -Wert: 1,00 - 0,86

Zone II: R_f -Wert: 0,86 - 0,71

Zone III: R_f -Wert: 0,71 - 0,58

Zone IV: R_f -Wert: 0,58 - 0,43

Zone V: R_f -Wert: 0,43 - 0,29

Zone VI: R_f -Wert: 0,29 - 0,14

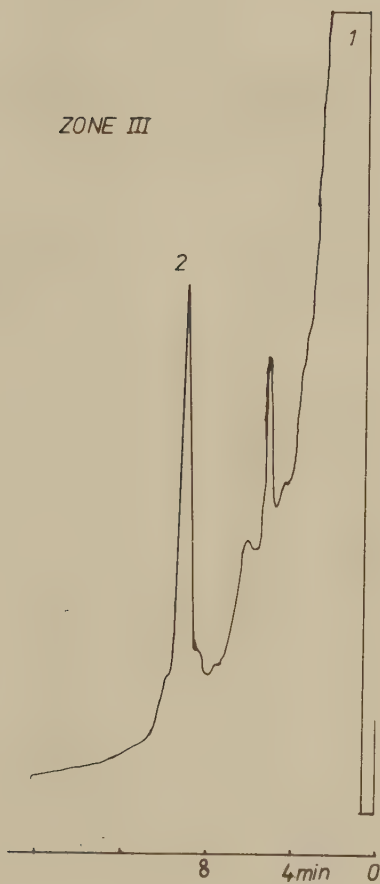


Abb.3: Gaschromatogramm der Zone III mit dem R_f -Wert
0,71 - 0,58, 1: Lösungsmittelpeak, 2: (E)-9-
Dodecenyl-1-acetat, Säulentemperatur: 150°C
stationäre Phase: Silar-10C,
Eingespritzte Menge: 0,7 μ l



Abb.4: Gaschromatogramm der Zone IV mit dem R_f -Wert 0,58 - 0,43, 1: Lösungsmittelpeak, 2: (E)-9-Dodecenyl-1-acetat, Säulentemperatur: 150°C, stationäre Phase: Silar-10C, Einspritzte Menge: 0,7 μ l

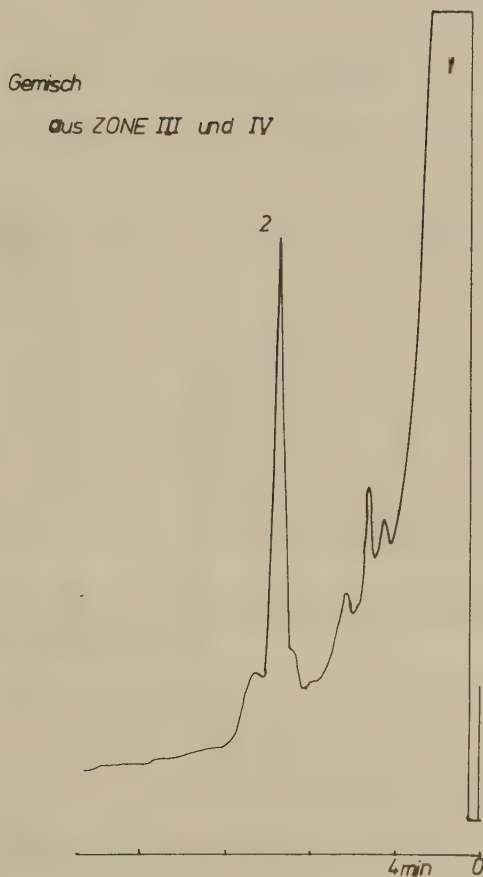


Abb.5: Gaschromatogramm des Gemisches aus Zone III und IV, 1: Lösungsmittelpeak, 2: (E)-9-Dodecenyl-1-acetat, Säulentemperatur: 150°C, stationäre Phase: Silar-10C eingespritzte Menge: 0,7 μ l

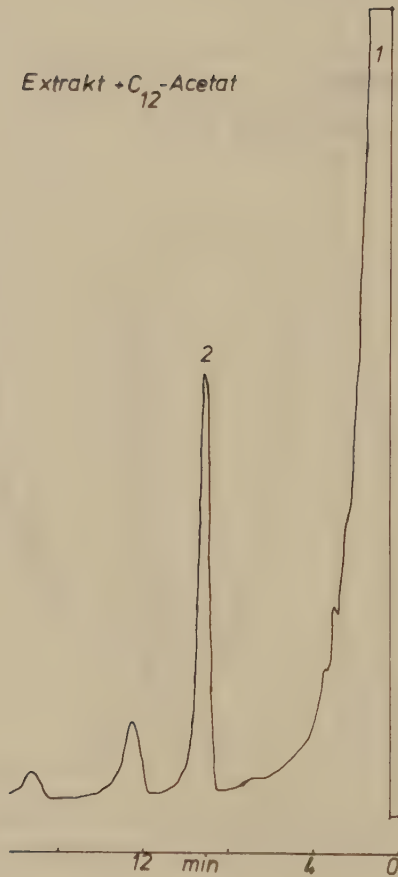


Abb.6: Gaschromatogramm des Rohextraktes vor der DC-Trennung zusammen mit (E)-9-Dodecenyl-1-acetat
1: Lösungsmittelpeak (Methylenchlorid),
2: (E)-9-Dodecenyl-1-acetat
Säulentemperatur: 150°C
stationäre Phase: Silar-10C
Eingespritzte Menge: 0,7 µl

Wie aus den Abbildungen 3, 4 und 5 ersichtlich liegt das (E)-9-Dodecenyl-1-acetat ziemlich genau an der Grenze der Zonen III und IV. Dies ermöglicht eine rechnerische Bestimmung des R_f -Wertes, der rund 0,6 beträgt.

Um sicher zu gehen, daß es sich wirklich um das (E)-Isomere handelt, wurde noch ein GC-Vergleich mit dem (Z)-Isomeren durchgeführt. Dabei wurde das (Z)-Isomere einmal isoliert und einmal im Gemisch mit dem Rohextrakt eingespritzt. Durch den Unterschied in den Retentionszeiten konnte eindeutig das (E)-Isomere nachgewiesen werden. Die Retentionszeit betrug für (Z)-9-Dodecenyl-1-acetat 9,3 min., für (E)-9-Dodecenyl-1-acetat 8,6 min. Die hier angewendete Methode führt bereits mit 1000 Tieren zu einem gesicherten Ergebnis. Es genügt eine einmalige präparative Dünnschicht-Chromatographie, um den gesuchten Stoff anzureichern, was gegenüber anderen Verfahren eine wesentliche Vereinfachung bedeutet.

II.3. Bestimmung von Erfassungsgrenzen mit Hilfe der Gaschromatographie

Die angewendete Methode bietet eine gute Möglichkeit, genauer zu untersuchen, wieviel Lockstoff in einem Tier vorhanden ist. Wenn man annimmt, daß pro Tier 5 ng Lockstoff erzeugt wird, und daß bei allen Vorbereitungsarbeiten keine Verluste auftreten, so kann folgende Rechnung durchgeführt werden:

Nach dem Homogenisieren und Ausfällen der inaktiven Lipide hatte die Stammlösung ein Volumen 3 ml. Diese 3 ml enthalten den Lockstoff von 1000 Weibchen. Pro Weibchen 5 ng Lockstoff bedeutet insgesamt 5000 ng Lockstoff in 3 ml Lösung. 0,7 μ l dieses Extraktes in die GC eingespritzt, ergaben ein deutliches Signal bei optimaler Verstärkung. Durch einfache Umrechnung läßt

sich zeigen, daß 1,2 ng ausreichen für dieses Signal. Theoretisch würde also 1/4 Tier genügen, um den Lockstoff zu erkennen.

In Wirklichkeit muß die Erfassungsgrenze noch tiefer liegen, denn die gemachten Voraussetzungen treffen sicher nicht zu. Man kann nicht von einer verlustfreien Aufarbeitung ausgehen, außerdem ist die Angabe von 5 ng Lockstoff pro Tier wahrscheinlich zu hoch. Die Gaschromatographie als Analysenmethode kommt in diesem speziellen Fall noch wesentlich unter 1 ng mit ihrer Nachweisgrenze. Andererseits muß darauf hingewiesen werden, daß es sich bei dem besprochenen Beispiel um den Nachweis einer bereits bekannten Substanz handelte, d.h. es konnte gezielt gesucht werden, ohne daß aufwendige Nachweismethoden dazwischengeschaltet werden mußten.

Die Mengen, die bei der Dünnschicht-Chromatographie isoliert wurden, ließen aber ohne weiteres eine Parallelbestimmung im EAG und der GC zu.

II.4. Isomerentrennung

Bei der stereoselektiven (Z)-Olefinierung mit Hilfe der Wittig-Reaktion ⁸⁶⁾ erhält man in geringem Maße auch das (E)-Isomere. Durch Dünnschicht-Chromatographie auf silbernitratimprägnierten Platten ist eine Auftrennung der beiden Komponenten des Gemisches möglich.

200 mg Gemisch aus (Z)- und (E)-Isomeren wurde in möglichst wenig Benzol gelöst und strichförmig auf eine mit Silbernitrat imprägnierte präparative DC-Platte gebracht. Nach der Entwicklung konnten drei Zonen festgestellt werden:

Zone I	:	R _F -Wert: 0,29
Zone II	:	R _F -Wert: 0,45
Zone III	:	R _F -Wert: 0,60

Von allen drei Zonen wurden IR-Spektren aufgenommen.

Das IR-Spektrum von Zone II zeigte deutlich das Auftreten einer Bande bei 966 cm^{-1} , die charakteristisch für (E)-Verbindungen ist. Diese Bande fehlt im Spektrum der Zone I. Zone I muß also die (Z)-Verbindung sein, Zone II, die (E)-Verbindung. Zone III erwies sich als Verunreinigung. Den gleichen Beweis erbrachte die Gaschromatographie auf Silar-10C.

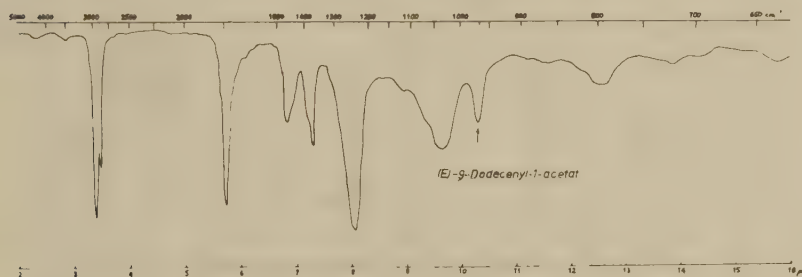


Abb.7: IR-Spektrum von Zone II: (E)-9-Dodecenyl-1-acetat

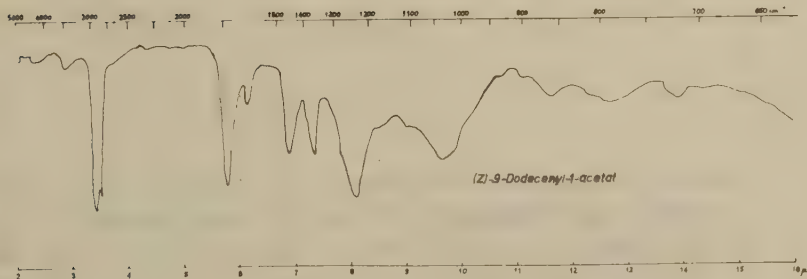
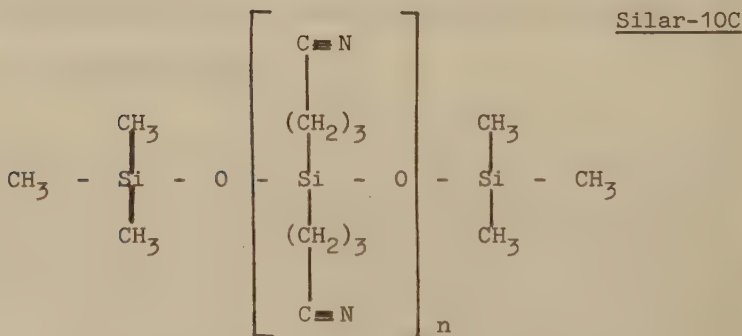
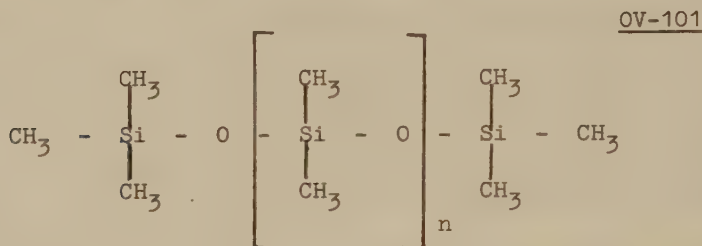


Abb.8: IR-Spektrum von Zone I: (Z)-9-Dodecenyl-1-acetat

III. Gaschromatographische Untersuchungen an homologen Reihen

Die gaschromatographischen Untersuchungen der homologen Reihen wurden auf zwei Säulen durchgeführt; auf OV-101 (unpolar) und Silar-10C (polar).

Strukturformeln:



OV-101 trennt nach Siedepunkten, Silar-10C nach unterschiedlicher Polarität. Silar-10C kann außerdem (Z)- und (E)-Isomere trennen, während dies auf OV-101 nicht möglich ist. (Z)- und (E)-Verbindungen gleicher homologer Reihe und C-Zahl haben auf OV-101 die gleiche Retentionszeit und damit auch das gleiche Retentionsvolumen.

III.1. Meßergebnisse

Legende für Tabellen 2 bis 17:

Jede homologe Reihe wurde zuerst auf Silar-10C, dann auf OV-101 gemessen.

C-Zahl: Gesamtanzahl der Kohlenstoffatome pro Verbindung,

Ret. Zeit (min): gemessene Retentionszeit in Minuten für jede Verbindung

V_R (ml): errechnetes Retentionsvolumen in ml aus Retentionszeit (min) x Strömungsgeschwindigkeit (ml/min),

$\log V_R$: dekadischer Logarithmus des Retentionsvolumens.

Tabelle 2: Chromatographiedaten für (Z)- und (E)-9-Alkenole

Silar-10C

Verbindung	C-Zahl	Ret. Zeit (min)	V_R (ml)	$\log V_R$
(Z)-9-Undecenol	11	5,7	228	2,358
(Z)-9-Tridecenol	13	8,6	344	2,537
(Z)-9-Hexadecenol	16	18,7	748	2,874
(E)-9-Undecenol	11	5,0	200	2,301
(E)-9-Tridecenol	13	7,8	312	2,494
(E)-9-Hexadecenol	16	17,6	704	2,848

Fortsetzung Tabelle 2

OV-101

Verbindung	C-Zahl	Ret. Zeit (min)	V _R (ml)	log V _R
(Z+E)-9-Undecenol	11	1,2	48	1,681
(Z+E)-9-Tridecenol	13	2,85	114	2,057
(Z+E)-9-Hexadecenol	16	9,3	372	2,571
(Z+E)-9-Octadecenol	18	20,5	820	2,914

Tabelle 3: Formiate der (Z)- und (E)-9-Alkenole

Silar-10C

(Z)-9-Dodecenyl-1-formiat	13	4,8	192	2,283
(Z)-9-Tridecenyl-1-formiat	14	6,2	248	2,394
(Z)-9-Tetradecenyl-1-formiat	15	8,0	320	2,505
(Z)-9-Hexadecenyl-1-formiat	17	12,8	512	2,709
(E)-9-Dodecenyl-1-formiat	13	4,4	176	2,246
(E)-9-Tridecenyl-1-formiat	14	5,6	224	2,350

Fortsetzung Tabelle 3

Silar-10C

Verbindung	C-Zahl	Ret. Zeit (min)	V _R (ml)	log V _R
(E)-9-Tetradecenyl-1-formiat	15	7,3	302	2,480
(E)-9-Hexadecenyl-1-formiat	17	12,0	480	2,681

OV-101

(Z+E)-9-Dodecenyl-1-formiat	13	2,3	92	1,964
(Z+E)-9-Tridecenyl-1-formiat	14	3,2	128	2,107
(Z+E)-9-Tetradecenyl-1-formiat	15	4,6	184	2,265
(Z+E)-9-Hexadecenyl-1-formiat	17	10,6	424	2,627

Tabelle 4: (Z)- und (E)-9-Alkenyl-1-acetat

Silar-10C

(Z)-9-Undecenyl-1-acetat	13	4,1	164	2,215
(Z)-9-Dodecenyl-1-acetat	14	4,8	192	2,283

Fortsetzung Tabelle 4

Silar-10C

Verbindung	C-Zahl	Ret. Zeit (min)	V _R (ml)	log V _R
(Z)-9-Tridecenyl-1-acetat	15	6,3	252	2,401
(E)-9-Undecenyl-1-acetat	13	3,7	148	2,170
(E)-9-Dodecenyl-1-acetat	14	4,4	176	2,246
(E)-9-Tridecenyl-1-acetat	15	5,7	228	2,358

OV-101

(Z+E)-9-Undecenyl-1-acetat	13	2,4	96	1,982
(Z+E)-9-Dodecenyl-1-acetat	14	3,2	128	2,107
(Z+E)-9-Tridecenyl-1-acetat	15	4,8	192	2,283
(Z+E)-9-Tetradecenyl-1-acetat	16	6,9	276	2,441
(Z+E)-9-Octadecenyl-1-acetat	20	37,0	1480	3,170

Tabelle 5: Propionate der (Z)- und (E)-9-Alkenole

Silar-10C

Verbindung	C-Zahl	Ret. Zeit (min)	V _R (mL)	log V _R
(Z)-9-Dodecenyl-1-propionat	15	5,7	228	2,358
(Z)-9-Tridecenyl-1-propionat	16	7,4	296	2,471
(Z)-9-Pentadecenyl-1-propionat	18	12,15	486	2,687
(E)-9-Dodecenyl-1-propionat	15	5,3	212	2,326
(E)-9-Tridecenyl-1-propionat	16	6,7	268	2,428
(E)-9-Pentadecenyl-1-propionat	18	11,3	452	2,655
OV-101				
(Z+E)-9-Dodecenyl-1-propionat	15	4,05	162	2,209
(Z+E)-9-Tridecenyl-1-propionat	16	6,25	250	2,398
(Z+E)-9-Pentadecenyl-1-pro- pionat	18	14,2	568	2,754

Tabelle 6: (Z)- und (E)-9-Alkensäuremethylester

Silar-10C

Verbindung	C-Zahl	Ret.Zeit (min)	V _R (ml)	log V _R
(Z)-9-Dodecensäure-methylester	13	4,2	168	2,225
(Z)-9-Tetradecensäure-methylester	15	6,8	272	2,435
(Z)-9-Hexadecensäure-methylester	17	11,2	448	2,651
(E)-9-Dodecensäure-methylester	13	3,8	152	2,182
(E)-9-Tetradecensäure-methylester	15	6,4	256	2,408
(E)-9-Hexadecensäure-methylester	17	10,8	432	2,635
OV-101				
(Z+E)-9-Dodecensäure-methylester	13	2,6	104	2,017
(Z+E)-9-Tetradecensäure-methylester	15	5,2	208	2,318

Fortsetzung Tabelle 6

OV-101

Verbindung	C-Zahl	Ret. Zeit (min)	V _R (ml)	log V _R
(Z+E)-9-Hexadecensäure-methylester	17	11,55	462	2,665
(Z+E)-9-Octadecensäure-methylester	19	26,50	1060	3,025

Tabelle 7: (Z)- und (E)-9-Alkensäureaethylester

Silar-10C

(Z)-9-Dodecensäure-aethylester	14	4,4	176	2,246
(Z)-9-Tetradecensäure-aethylester	16	7,1	284	2,453
(Z)-9-Pentadecensäure-aethylester	17	9,1	364	2,561
(Z)-9-Hexadecensäure-aethylester	18	11,6	464	2,666

Fortsetzung Tabelle 7

Silar-10C

Verbindung	C-Zahl	Ret. Zeit (min)	V _R (ml)	log V _R
(E)-9-Dodecensäure- aethylester	14	4,0	160	2,204
(E)-9-Tetradecensäure- aethylester	16	6,6	264	2,421
(E)-9-Pentadecensäure- aethylester	17	8,4	336	2,526
(E)-9-Hexadecensäure- aethylester	18	11,0	440	2,644
OV-101				
(Z+E)-9-Dodecensäure- aethylester	14	3,05	122	2,086
(Z+E)-9-Tridecensäure- aethylester	15	4,54	182	2,259
(Z+E)-9-Tetradecensäure- aethylester	16	6,6	264	2,422

Fortsetzung Tabelle 7

OV-101

Verbindung	C-Zahl	Ret. Zeit (min)	V _R (mL)	log V _R
(Z+E)-9-Pentadecen- säureaethylester	17	9,85	394	2,596
(Z+E)-9-Hexadecen- säureaethylester	18	14,8	592	2,772

Tabelle 8: 1, (Z)-11- und 1, (E)-11-Alkadiene

Silar-10C

1, (Z)-11-Tetradekadien	14	1,0	40	1,602
1, (Z)-11-Hexadekadien	16	1,5	60	1,781
1, (Z)-11-Octadekadien	18	2,2	88	1,943
1, (E)-11-Tetradekadien	14	0,8	32	1,505

Fortsetzung Tabelle 8

Silar-10C

Verbindung	C-Zahl	Ret. Zeit (min)	V _R (ml)	log V _R
1, (E)-11-Hexadekadien	16	1,2	48	1,681
1, (E)-11-Octadekadien	18	1,8	72	1,857
OV-101				
1, (Z+E)-11-Tetradekadien	14	1,0	40	1,602
1, (Z+E)-11-Hexadekadien	16	2,2	88	1,944
1, (Z+E)-11-Octadekadien	18	4,9	196	2,292

Tabelle 9: 1-Alkanole

Silar-10C

1-Dodekanol	12	4,4	176	2,246
1-Tridekanol	13	5,9	236	2,373

Fortsetzung Tabelle 9

Silar-10C

Verbindung	C-Zahl	Ret. Zeit (min)	V _R (ml)	log V _R
1-Tetradekanol	14	7,8	302	2,480
1-Hexadekanol	16	13,4	536	2,729
1-Heptadekanol	17	17,6	704	2,848
OV-101				
1-Dodekanol	12	1,8	72	1,857
1-Tridekanol	13	2,7	108	2,033
1-Tetradekanol	14	4,1	164	2,215
1-Hexadekanol	16	9,5	380	2,580
1-Heptadekanol	17	14,35	574	2,759

Tabelle 10: Alkyl-1-acetat

Silar-10C

Verbindung	C-Zahl	Ret. Zeit (min)	V _R (ml)	log V _R
Dodecyl-1-acetat	14	3,5	140	2,146
Tridecyl-1-acetat	15	4,6	184	2,265
Hexadecyl-1-acetat	18	10,7	428	2,632

OV-101

Dodecyl-1-acetat	14	3,0	120	2,079
Tridecyl-1-acetat	15	4,7	180	2,255
Hexadecyl-1-acetat	18	16,0	640	2,806

Tabelle 11: Verbindungen mit der Doppelbindung in Position 11

Silar-10C

(Z)-11-Tridecenyl-1-acetat	15	7,05	282	2,450
----------------------------	----	------	-----	-------

Fortsetzung Tabelle 11

Silar-10C

Verbindung	C-Zahl	Ret. Zeit (min)	V _R (ml)	log V _R
(Z)-11-Hexadecenyl-1-acetat	18	13,75	550	2,740
(Z)-11-Octadecenyl-1-acetat	20	21,05	842	2,925
(E)-11-Tridecenyl-1-acetat	15	6,2	248	2,394
(E)-11-Hexadecenyl-1-acetat	18	13,75	550	2,740
(E)-11-Octadecenyl-1-acetat	nicht trennbar			
OV-101				
(Z+E)-11-Tridecenyl-1-acetat	15	5,5	220	2,342
(Z+E)-11-Hexadecenyl-1-acetat	18	14,1	564	2,751
(Z+E)-11-Octadecenyl-1-acetat	20	32,5	1300	3,144

Tabelle 12: Alkohole mit der Doppelbindung in Position 11

Silar-10C

Verbindung	C-Zahl	Ret. Zeit (min)	V _R (ml)	log V _R
(Z)-11-Tetradecenol	14	11,4	456	2,659
(Z)-11-Hexadecenol	16	19,2	768	2,885
(E)-11-Tetradecenol	14	10,5	420	2,623
(E)-11-Hexadecenol	16	17,8	712	2,852

OV-101

(Z+E)-11-Tetradecenol	14	3,65	146	2,164
(Z+E)-11-Hexadecenol	16	8,20	328	2,516

Tabelle 13: Verbindungen mit der Doppelbindung in Position 6 und 7

Silar-10C

(Z)-6-Dodecensäure- äthylester	14	6,1	244	2,387
-----------------------------------	----	-----	-----	-------

Fortsetzung Tabelle 13:

Silar-10C

Verbindung	C-Zahl	Ret. Zeit (min)	V _R (ml)	log V _R
(Z)-6-Dodeceny1-1-acetat	14	4,3	172	2,236
(Z)-6-Dodecenol	12	6,2	248	2,394
(E)-6-Dodecensäure-aethylester	14	5,6	224	2,350
(E)-6-Dodeceny1-1-acetat	14	3,8	152	2,182
(E)-6-Dodecenol	12	5,6	224	2,350

OV-101

(Z+E)-6-Dodecenol	12	1,4	56	1,748
(Z+E)-6-Dodeceny1-1-acetat	14	2,3	92	1,964
(Z+E)-6-Dodecensäure-aethylester	14	2,1	84	1,924

Fortsetzung Tabelle 13

Silar-10C

Verbindung	C-Zahl	Ret. Zeit (min)	V _R (ml)	log V _R
(Z)-7-Dodecenol	12	6,1	244	2,387
(Z)-7-Tetradecenol	14	10,6	424	2,627
(Z)-7-Dodecensäure- äthylester	14	3,8	152	2,181
(Z)-7-Tetradecensäure- äthylester	16	6,15	246	2,391
(E)-7-Dodecenol	12	5,7	228	2,358
(E)-7-Tetradecenol	14	9,55	382	2,582
(E)-7-Dodecensäure- äthylester	14	2,85	114	2,057
(E)-7-Tetradecensäure- äthylester	16	5,85	234	2,369
OV-101				
(Z+E)-7-Dodecenol	12	1,65	66	1,819
(Z+E)-7-Tetradecenol	14	3,4	136	2,134

Fortsetzung Tabelle 13

OV-101

Verbindung	C-Zahl	Ret. Zeit (min)	V _R (ml)	log V _R
(Z+E)-7-Dodecensäure- äthylester	14	2,6	104	2,017
(Z+E)-7-Tetradecensäure- äthylester	16	5,6	224	2,350

Tabelle 14: Carbonsäureester mit (Z)- und (E)-9-Hexadecenol-(1)

Silar-10C

(Z)-9-Hexadecenyl-1-butyrat	20	18,8	752	2,876
(Z)-9-Hexadecenyl-1-valeria- nat	21	25,1	1004	3,002
(E)-9-Hexadecenyl-1-butyrat	20	17,6	704	2,847
(E)-9-Hexadecenyl-1-valeria- nat	21	23,3	932	2,969

Fortsetzung Tabelle 14

OV-101

Verbindung	C-Zahl	Ret. Zeit (min)	V _R (mL)	log V _R
(Z,E)-9-Hexadecenyl-1-butyrat	20	19,2	768	2,885
(Z,E)-9-Hexadecenyl-1-valerianat	21	35,4	1416	3,161

Tabelle 15: Doppelt ungesättigte Verbindungen (9,12)

Silar-10C

(Z,E)-9,12-Tetradekadien-1-ol	14	13,0	520	2,716
(Z,E)-9,12-Tetradekadiensäuremethylester	15	7,6	304	2,483
(Z,E)-9,12-Tetradekadienyl-1-acetat	16	10,2	408	2,611
(E,E)-9,12-Tetradekadien-1-ol	14	12,2	488	2,688

Fortsetzung Tabelle 15

Silar-10C

Verbindung	C-Zahl	Ret. Zeit (min)	V _R (ml)	log V _R
(E,E)-9,12-Tetradeka- diensäuremethylester	15	7,1	284	2,453
(E,E)-9,12-Tetradeka- dienyl-1-acetat	16	8,4	336	2,526
OV-101				
(Z+E)-9,12-Tetradeka- dien-1-ol	14	3,7	148	2,170
(Z+E)-9,12-Tetradeka- diensäuremethylester	15	4,7	188	2,274
(Z+E)-9,12-Tetradeka- dienyl-1-acetat	16	6,4	256	2,408

Tabelle 15: (Z)-9-Alkenale

Silar-10C

Verbindung	C-Zahl	Ret. Zeit (min)	V _R (ml)	log V _R
(Z)-9-Dodecenal	12	4,0	160	2,204
(Z)-9-Tetradecenal	14	6,6	264	2,422
(E)-9-Dodecenal	12	3,6	144	2,158
(E)-9-Tetradecenal	14	6,1	244	2,387
OV-101				
(Z+E)-9-Dodecenal	12	1,5	60	1,788
(Z+E)-9-Tetradecenal	14	2,9	116	2,064

Tabelle 17: Alkansäureaethylester

Silar-10C

Verbindung	C-Zahl	Ret. Zeit (min)	V _R (ml)	log V _R
Laurinsäureaethylester	14	3,2	128	2,107
Myristinsäureaethylester	16	5,2	208	2,318
Palmitinsäureaethylester	18	8,8	352	2,547
OV-101				
Laurinsäureaethylester	14	2,8	112	2,049
Myristinsäureaethylester	16	6,5	260	2,415
Palmitinsäureaethylester	18	14,8	592	2,772

III.2. Diskussion der Meßergebnisse

Trägt man die Logarithmen der Retentionsvolumina gegen die C-Zahl auf, so erhält man Geraden (Vgl. Abb. 9 - 13). Für Chromatographidaten, die auf Silar-10C gemessen wurden erhält man für jede homologe Reihe zwei Geraden, eine für die (Z)- und eine für die (E)-Verbindungen.

Wie aus den Abbildungen 9 - 11 ersichtlich, schneiden sich diese beiden Geraden im Falle der (Z)- und (E)-9-Alkenole, der (Z)- und (E)-9-Alkensäuremethylester sowie der (Z)- und (E)-11-Alkenylacetate.

Für die Propionate der (Z)- und (E)-9-Alkenole und die 1,(Z)-11, bzw. 1,(E)-11-Alkadiene verlaufen die beiden Geraden nahezu parallel (Abb. 12 und 13).

Aufgrund der Meßergebnisse kann man zwei hervorstechende Gruppen unterscheiden:

Gruppe I: Die Trennung in (Z)- und (E)-Isomeres ist von der C-Zahl abhängig, der Geradenschnittpunkt für diese drei Verbindungsklassen liegt etwa bei der C-Zahl 20. Bis zu dieser C-Zahl wurde das (E)-Isomere stets vor dem (Z)-Isomeren eluiert. Vom Geradenschnittpunkt ab müßte sich das chromatographische Verhalten umkehren. Dies konnte experimentell nicht nachgeprüft werden, da bei der gewählten Säulentemperatur von 170°C, Verbindungen mit einer C-Zahl größer als 20 nicht mehr einwandfrei chromatographiert werden konnten.

Gruppe II: Die Trennung von (Z)- und (E)-Isomeren ist unabhängig von der C-Zahl.

Die (Z)- bzw. (E)-9-Alkenyl-1-formiate, die (Z)- bzw. (E)-9-Alkenale, die (Z)- bzw. (E)-9-Alkenyl-1-acetate sowie die (Z)- bzw. (E)-9-Alkensäureäthylester ähneln in ihrem chromatographischen Verhalten den Verbindungen der Gruppe I.

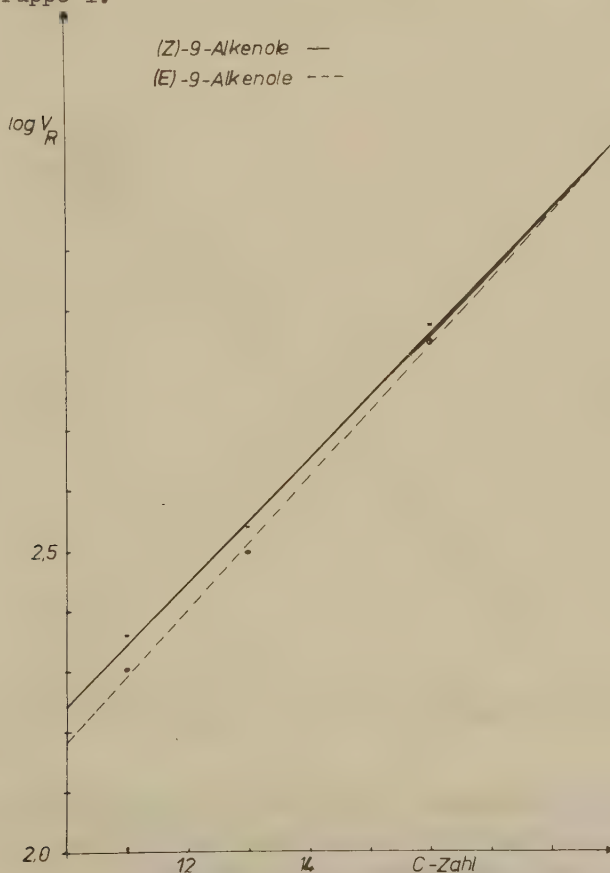


Abb. 9: Graphische Darstellung der Abhängigkeit der Logarithmen des Retentionsvolumens der (Z)- bzw. (E)-9-Alkenole von der C-Zahl
(Z)-9-Alkenole ———, (E)-9-Alkenole -----,

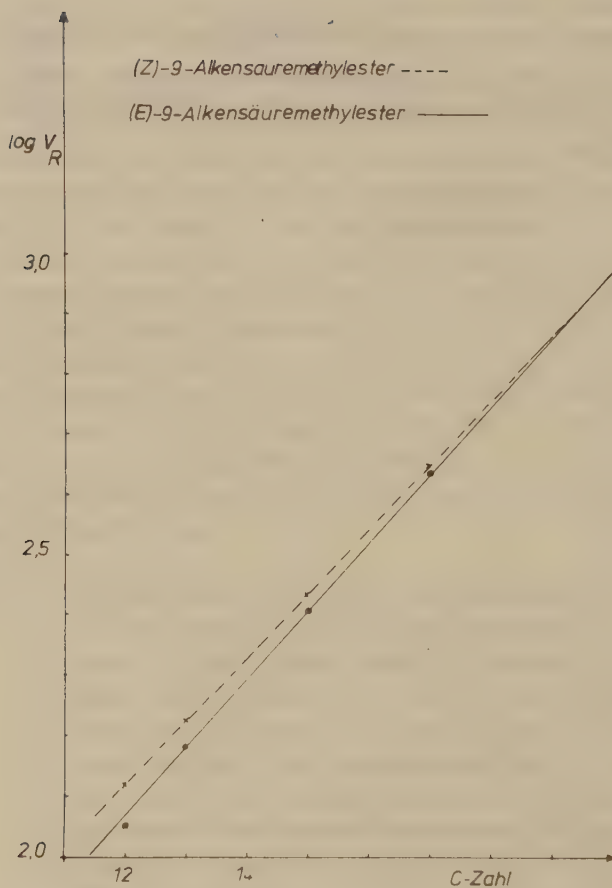


Abb. 10: Graphische Darstellung der Abhängigkeit der Logarithmen des Retentionsvolumens der (Z)- bzw. (E)-9-Alkensäuremethylester von der C-Zahl.
 (Z)-9-Alkensäuremethylester -----,
 (E)-9-Alkensäuremethylester ———,

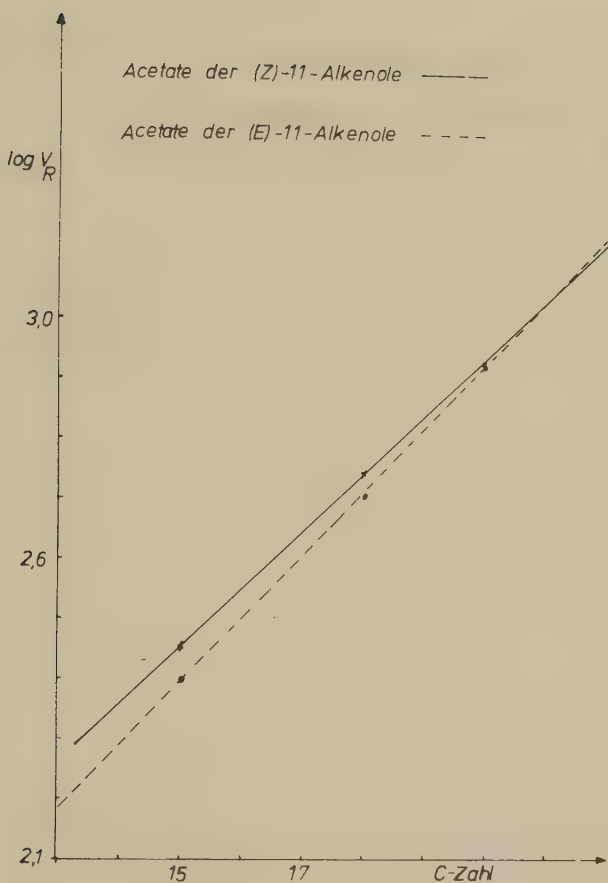


Abb. 11: Graphische Darstellung der Abhängigkeit der Logarithmen des Retentionsvolumens der (Z)- bzw. (E)-11-Alkenyl-1-acetate von der C-Zahl.
(Z)-11-Alkenyl-1-acetat ———,
(E)-11-Alkenyl-1-acetat - - - -,

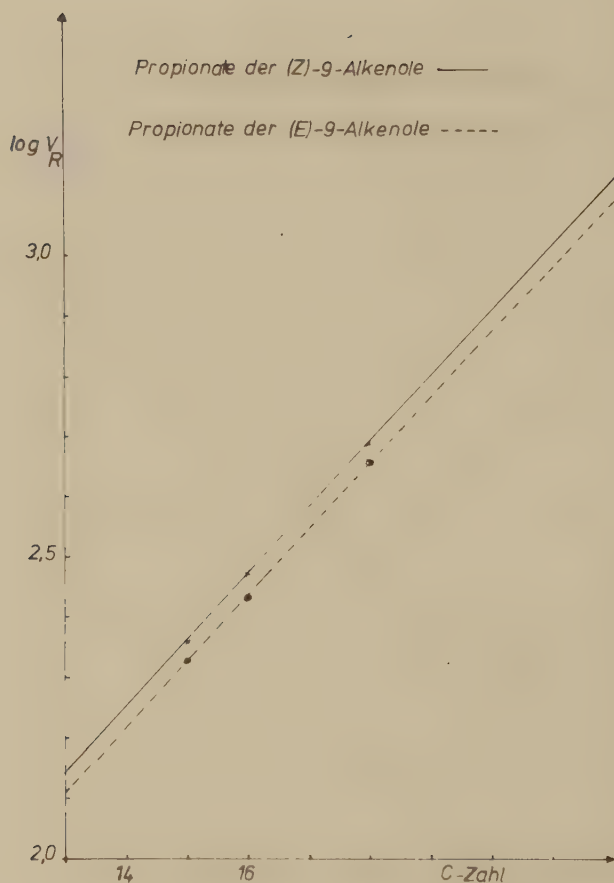


Abb. 12: Graphische Darstellung der Abhängigkeit der Logarithmen des Retentionsvolumens der (Z)- bzw. (E)-9-Alkenyl-1-propionate von der C-Zahl.
(Z)-9-Alkenyl-1-propionat ———,
(E)-9-Alkenyl-1-propionat - - - - -,

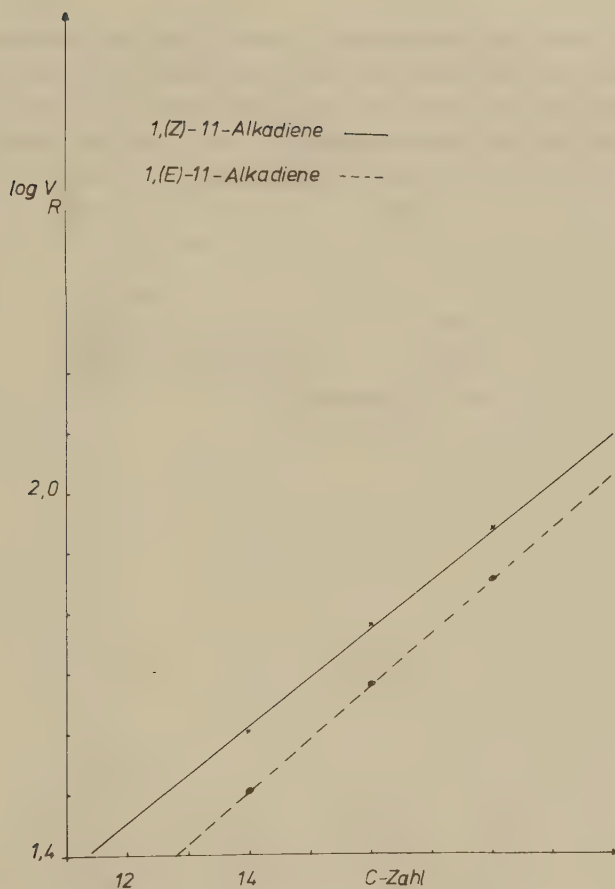


Abb. 13: Graphische Darstellung der Abhängigkeit der Logarithmen des Retentionsvolumens der 1, (Z)- bzw. 1, (E)-11-Alkadiene von der C-Zahl.
1, (Z)-11-Alkadiene —, 1, (E)-11-Alkadiene ----,

Als Besonderheit der stationären Phase Silar-10C stellte sich heraus, daß die Trennfähigkeit zwischen (Z)- und (E)-Isomeren von der Stellung der Doppelbindung im Molekül abhängt. Je weiter die Doppelbindung an das Ende der Kohlenstoffkette rückt, umso besser gelingt die Trennung (Abb.14-17).

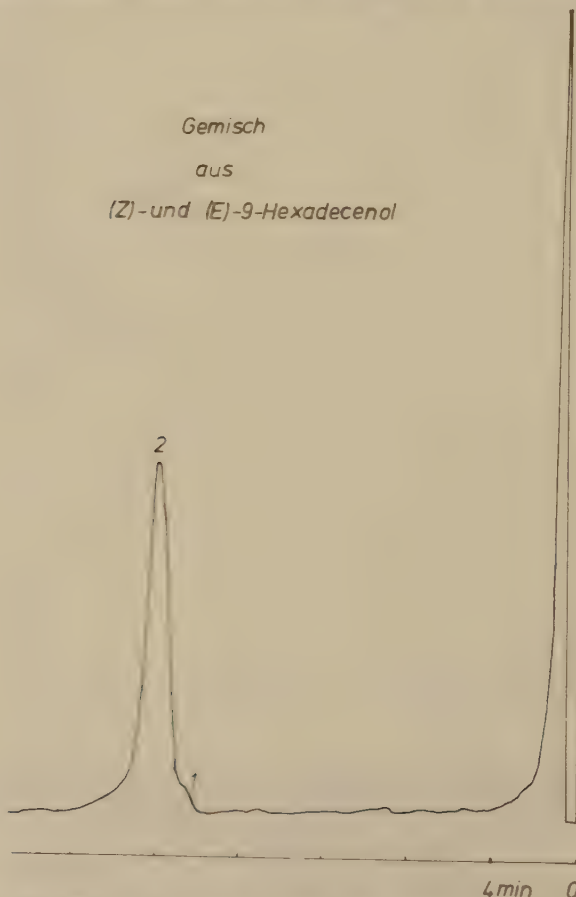


Abb. 14: Gaschromatogramm eines Gemisches aus (Z)- und (E)-9-Hexadecenol, (Lösungsmittel: n-Hexan), Peak No.1 (E)-9-Hexadecenol, Peak No. 2 (Z)-9-Hexadecenol

Gaschromatographiebedingungen siehe Seite 32

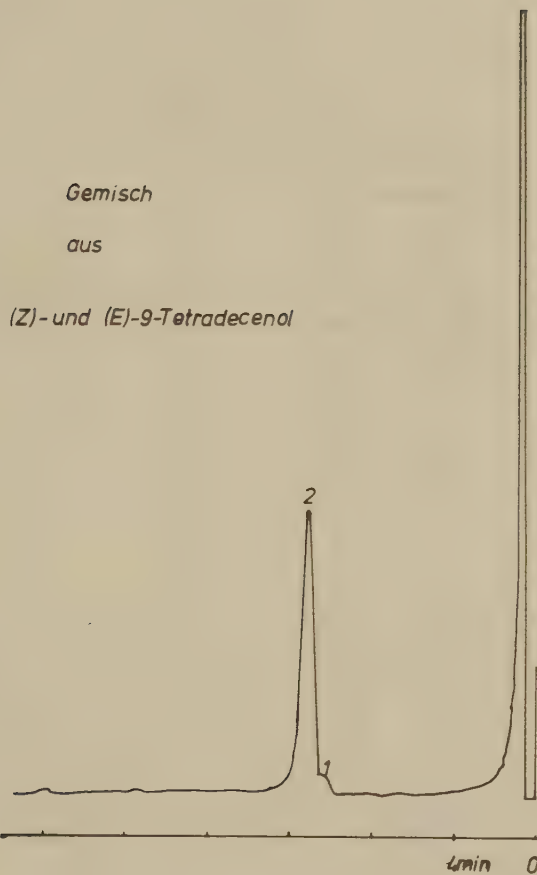


Abb. 15: Gaschromatogramm eines Gemisches aus (Z)- und (E)-9-Tetradecenol (Lösungsmittel: n-Hexan)
Peak No. 1 (E)-9-Tetradecenol, Peak No.2 (Z)-9-Tetradecenol
Gaschromatographiebedingungen siehe Seite 32

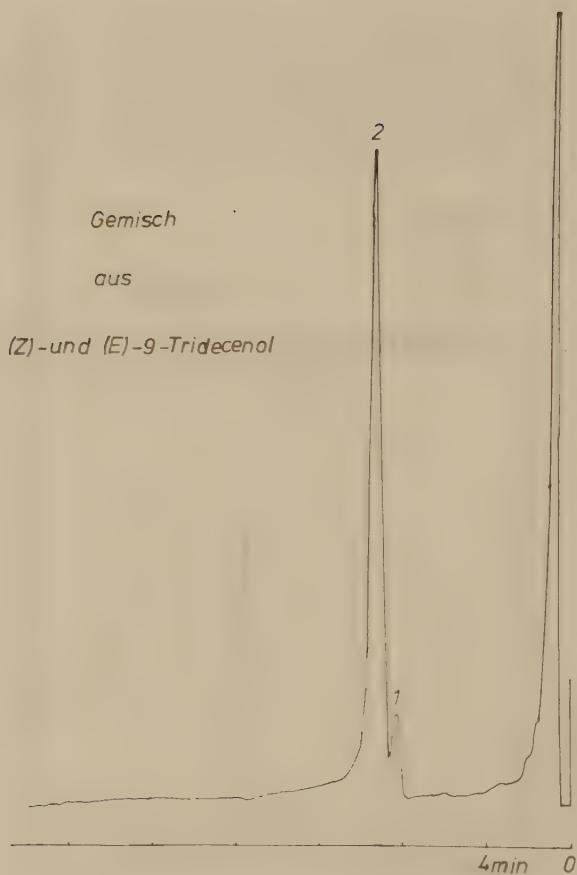


Abb. 16: Gaschromatogramm eines Gemisches aus (Z)- und (E)-9- Tridecenol (Lösungsmittel: n-Hexan)
Peak No. 1 (E)-9-Tridecenol, Peak No. 2 (Z)-9-Tridecenol
Gaschromatographiebedingungen siehe Seite 32

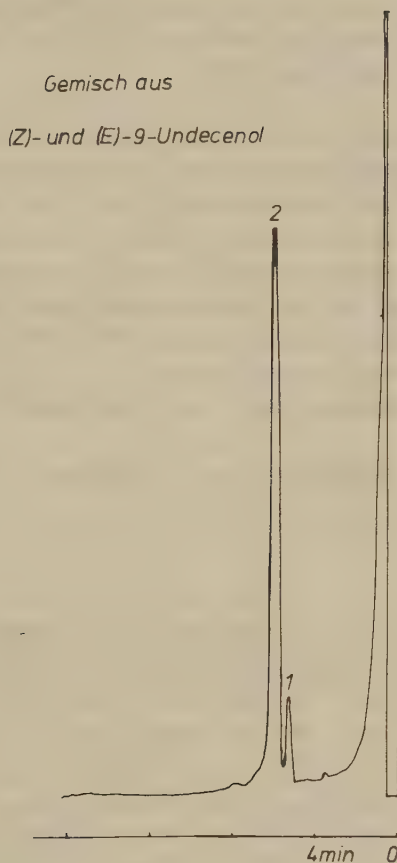


Abb. 17: Gaschromatogramm eines Gemisches aus (Z)- und (E)-9-Undecenol (Lösungsmittel: n-Hexan)
Peak No. 1. (E)-9-Undecenol, Peak No. 2 (Z)-9-Undecenol
Gaschromatographiebedingungen siehe Seite 32

III.3. Versuch einer Deutung der Trennergebnisse für für (Z)- und (E)-Isomere mit Hilfe des Ver- teilungskoeffizienten

Die chromatographische Trennung beruht auf Unterschieden in der Gleichgewichtsverteilung der Probenbestandteile zwischen zwei nicht mischbaren Phasen. Bei der Gas-Flüssig-Chromatographie, die bei den vorliegenden Untersuchungen angewendet wurde, beruht diese Gleichgewichtsverteilung auf den unterschiedlichen Verteilungskoeffizienten der einzelnen Probenkomponenten zwischen Trägergas und stationärer Phase.

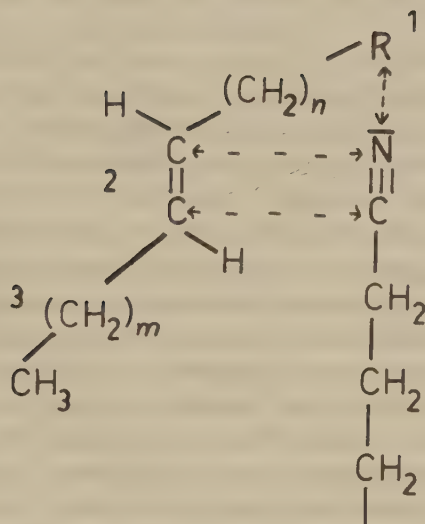
Der Verteilungskoeffizient K wird definiert:

$$K = \frac{\text{Konzentration in flüssiger Phase}}{\text{Konzentration in gasförmiger Phase}}$$

Er ist eine stoff- und phasenspezifische Größe und in einem System Phase 1 (Trägergas) - Komponente - Phase 2 (stationäre Phase) nur eine Funktion der Temperatur. Diejenige Komponente aus einem Substanzgemisch wird bei gegebener Temperatur am langsamsten mit der bewegten gasförmigen Phase wandern, die den größten Verteilungskoeffizienten besitzt. Er ist abhängig von der Größe der Wechselwirkung der betrachteten Komponente mit der stationären Phase. Je größer diese Wechselwirkung ist, umso größer ist der Verteilungskoeffizient.

III.3.1. Modellvorstellung zur Wechselwirkung Komponente - stationäre Phase

Die folgende Zeichnung gibt eine mögliche Anordnung des zu trennenden Moleküls an der stationären Phase wieder. (gezeichnet ist das (E)-Isomere).



Zur besseren Erklärung erscheint es sinnvoll, das zu untersuchende Molekül in Abschnitte einzuteilen:

1. R (funktionelle Gruppe)

Die Länge der Alkylkette von R bis zur Doppelbindung ist bei deren gegebener Position immer konstant.

2. Die Doppelbindung

3. Die Alkylkette von der Doppelbindung zum Molekülende. Sie ändert sich beim Durchlaufen einer homologen Reihe um jeweils eine CH_2 -Gruppe.

Als vierter Punkt muß noch die räumliche Anordnung aller drei Teile zueinander betrachtet werden.

Das zu untersuchende Molekül hat zwei exponierte Stellen an denen es mit der stationären Phase in Wechselwirkung treten kann.

Diese sind der Abschnitt 1 (funktionelle Gruppe) und der Abschnitt 2 (Doppelbindung).

Die Nitrilgruppe als polares Zentrum der stationären Phase hat die Möglichkeit, sowohl mit der funktionellen Gruppe R, als auch mit der Doppelbindung in Wechselwirkung zu treten. Welcher der beiden möglichen Angriffspunkte überwiegt, hängt bei konstant gehaltener Position der Doppelbindung allein von der funktionellen Gruppe ab.

Zunächst soll das chromatographische Verhalten der (Z)- bzw. (E)-9-Alkenole untersucht werden.

Bei der graphischen Darstellung $\log V_R$ aufgetragen gegen die C-Zahl erhält man für (Z)- und (E)-Isomere Geraden unterschiedlicher Steigung. Je größer die C-Zahl wird, umso stärker konvergieren die Geraden. Das bedeutet, daß der Unterschied in den Verteilungskoeffizienten für (Z)- und (E)-Isomeres immer geringer wird.

Die Nitrilgruppe der stationären Phase stellt eine polare Gruppierung dar. Durch Influenz erzeugt sie ein elektrisches Feld und polarisiert dadurch das zu trennende Molekül. Der Grad dieser Polarisierung ist abhängig von der Polarisierbarkeit der untersuchten Verbindung.

Die Polarisierbarkeit hängt aber vom +I-Effekt der Alkylgruppen des Moleküls ab. Die durch den +I-Effekt entstehenden elektrischen Feldvektoren subtrahieren sich bei der (E)-Verbindung, bei der (Z)-Verbindung addieren sie sich. Die Größe des +I-Effektes hängt von der Länge der Alkylkette (Abschnitt 3 des Moleküls) ab. Je länger diese Alkylkette wird, umso geringer wird die Wirkung des +I-Effektes auf die Doppelbindung. Da die Alkylkette von der Doppelbindung zur funktionellen Gruppe in ihrer Länge konstant bleibt (bei gegebener Doppelbindungsposition), bleibt die Größe ihres +I-Effektes beim Durchlaufen der homologen Reihe immer konstant.

Es braucht also nur der +I-Effekt im Abschnitt 3 des Moleküls berücksichtigt zu werden.

Das Experiment ergab die beste Trennung für das Isomerenpaar (Z)- und (E)-9-Undecenol. In diesem speziellen Fall bildet eine isolierte CH_3 -Gruppe das Molekülende.

Da sich beim (Z)-Isomeren die elektrischen Feldvektoren addieren, ergibt sich eine Resultierende, die größer ist, als für das (E)-Isomere der gleichen C-Zahl. Somit ist auch die Polarisierbarkeit des (Z)-Isomeren größer als die des (E)-Isomeren. Gleichsinnig erhöht sich die Polarisierung und die Wechselwirkung mit der polaren Nitrilgruppe. Die Summe dieser Effekte bewirkt einen größeren Verteilungskoeffizienten für das (Z)-Isomere.

Verlängert sich nun beim Durchlaufen der homologen Reihe der Abschnitt 3 im Molekül, so verkleinert sich die Differenz der Resultierenden für das (Z)- und (E)-Isomere. Analog zu den oben genannten Überlegungen gleichen sich die Werte der Verteilungskoeffizienten immer mehr an.

Die Unterschiede in der Trennung von (Z)- und (E)-Isomeren werden immer geringer. Beweis hierfür ist die schlechte Trennung für (Z)- und (E)-9-Hexadecenol (Abb.9, S.67 und Abb.14, S.72).

Das Verhalten der Propionate der (Z)- und (E)-9-Alkenole kann im gemessenen Bereich nicht erklärt werden.

III.4. Zusammenhang zwischen Retentionszeit und Stellung der Doppelbindung

In der Literatur sind mehrere Veröffentlichungen bekannt, in denen das Retentionsverhalten ungesättigter Verbindungen aufgrund chromatographischer Daten verwandter gesättigter Verbindungen untersucht wird 99) 100) 101). Betrachtet man verschiedene Verbindungsklassen und sucht sich Vertreter mit gleicher Kohlenstoffzahl aus, so läßt sich daraus ein interessantes chromatographisches Verhalten ansehen. Betrachtet werden sollen zunächst die Alkohole und Aethylester mit gleicher C-Zahl aber unterschiedlicher Stellung der Doppelbindung.

Legende zu Tabelle 18

Aethylester mit der C-Zahl 14

Die Chromatographiedaten werden in Retentionsindices ausgedrückt.

Retentionsindex I: Retentionszeit Laurinsäureaethylester :
Retentionszeit ungesättigte Verbindung
verhält sich wie 1 : I

Chromatographiebedingungen siehe Seite 32.

Legende zu Tabelle 19

Alkohole mit der C-Zahl 12

Retentionsindex I: Retentionszeit Dodekanol-(1) :
Retentionszeit ungesättigte Verbindung
verhält sich wie 1 : I

Chromatographiebedingungen siehe Seite 32.

Tabelle 18: Aethylester mit der C-Zahl 14

Bezugspunkt für I: Ret. Zeit von Laurinsäureaethylester

Verbindung	I _{Silar-10C}	I _{OV-101}
(Z)-6-Dodecensäureaethylester	1,907	0,750
(Z)-7-Dodecensäureaethylester	1,188	0,928
(Z)-9-Dodecensäureaethylester	1,375	1,090
(Z)-9,11-Dodecadiensäureaethyl- ester	2,190	0,875
(E)-6-Dodecensäureaethylester	1,750	0,750
(E)-7-Dodecensäureaethylester	0,894	0,928
(E)-9-Dodecensäureaethylester	0,953	1,090
(E)-9,11-Dodecadiensäureaethyl- ester	2,190	0,875

Tabelle 19: Alkohole mit der C-Zahl 12

Bezugspunkt für I: Ret. Zeit von Dodekanol-(1)

Verbindung	I _{Silar-10C}	I _{OV-101}
(Z)-6-Dodecenol	1,410	0,778
(Z)-7-Dodecenol	1,388	0,917
(Z)-9-Dodecenol	1,600	0,984
(E)-6-Dodecenol	1,272	0,778
(E)-7-Dodecenol	1,296	0,917
(E)-9-Dodecenol	1,429	0,984

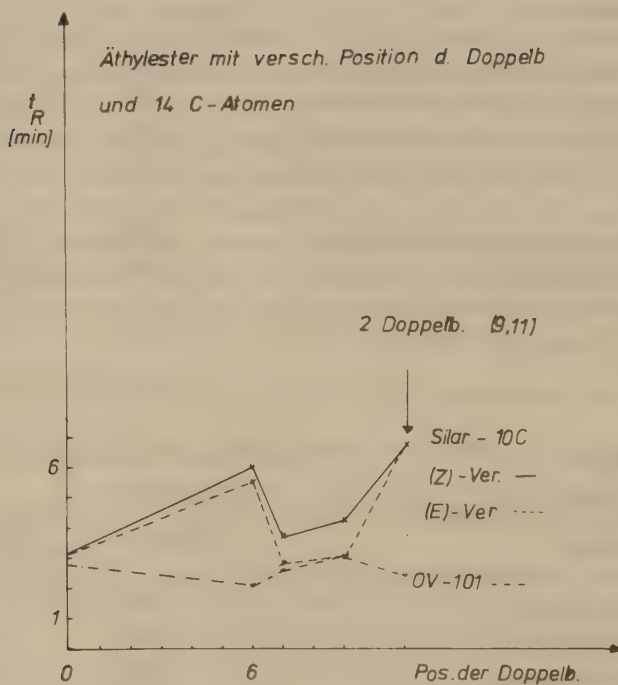


Abb. 18: Abhängigkeit der Retentionszeit der Äthylester mit 14 C-Atomen von der unterschiedlichen Position der Doppelbindung.
Silar-10C (Z)-Verbindung —, (E)-Verbindung ----, OV-101 -.-.-,
Die Position 11 auf der Abszisse entspricht dem 9,11-Dodecadiensäureäthylester.

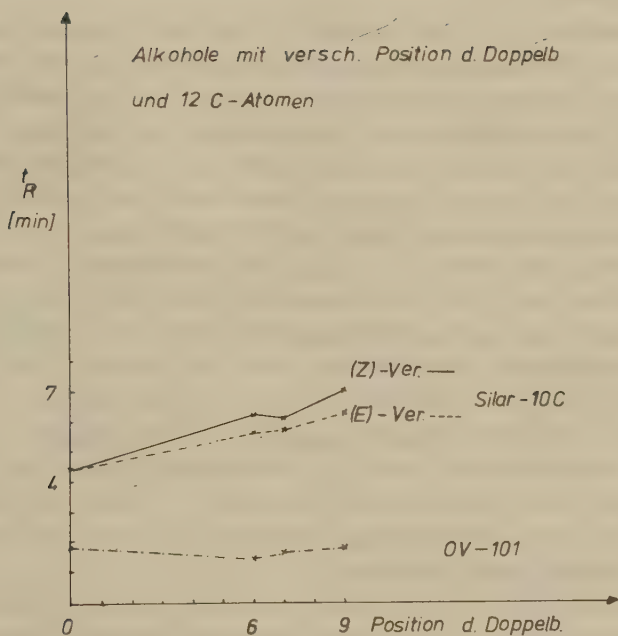


Abb. 19: Abhängigkeit der Retentionszeit von Alkoholen mit 12 C-Atomen von der unterschiedlichen Position der Doppelbindung.
Silar-10C (Z)-Verbindung —, (E)-Verbindung ----, OV-101 -.-.-.

Aus beiden Tabellen (18 und 19) und den entsprechenden graphischen Darstellungen (Abb. 18 und 19) ist zu ersehen, daß die Stellung der Doppelbindung und die funktionelle Gruppe einen entscheidenden Einfluß auf das Retentionsverhalten haben.

Wie bereits in III.3.1. erwähnt, kann die Nitrilgruppe sowohl mit der Doppelbindung als auch mit der funktionellen Gruppe in Wechselwirkung treten. Diese Wechselwirkung kann in Form einer Ringbildung stattfinden. Aus der Stabilität der gebildeten Ringe sind Aussagen über die Retentionszeit möglich. Je stabiler der gebildete Ring, umso größer ist die Wechselwirkung und damit die Retentionszeit. Am Beispiel der Aethylester der (Z)- bzw. (E)-9-Dodecensäure steigen die Ringgrößen von 9 ((Z)-6-Dodecensäureaethylester) bis 12 ((Z)-9-Dodecensäureaethylester) an. Beim (Z)-7-Dodecensäureaethylester hat die Retentionszeit ein Minimum. Das bedeutet, daß der 10-Ring instabiler als die anderen Ringe ist. Genau dasselbe Verhalten fanden Ruzicka ¹⁰⁷⁾ und Ziegler ¹⁰⁸⁾ bei ihren Untersuchungen über die Bildungstendenzen von großen Ringen. Diese Erklärung gilt für die (Z)- bzw. (E)-9-Dodecensäure sinngemäß. Verbindungen mit Doppelbindungsposition kleiner als 6 wurden nicht untersucht.

Die höchste Polarität hat eindeutig der (Z)-9,11-Dodecadiensäureaethylester. Eine zweite Doppelbindung im Molekül bedeutet eine Steigerung der Retentionszeit für Aethylester um den Faktor 2,2. Über die Kurven, die das Verhalten auf OV-101 darstellen, läßt sich verhältnismäßig wenig aussagen. Sie spiegeln im wesentlichen die Siedepunkte der verschiedenen Verbindungen wieder.

Die bisher angestellten Betrachtungen bezogen sich nur auf Verbindungen mit gleicher C-Zahl. Ergänzend dazu werden im Folgenden Verbindungen mit unterschiedlicher C-Zahl untersucht.

Legende zu Tabelle 20

Bezugspunkt für den Retentionsindex I ist wiederum das Retentionsverhalten der gesättigten Stammverbindung. Untersucht wurden die Acetate, die Alkohole und die Äthylester. Als Basis wurden die entsprechenden gesättigten Verbindungen mit der C-Zahl 14 gewählt.

Spalte 1: A : B (C), A = Anzahl der C-Atome, B = Anzahl der Doppelbindungen, C = Position der Doppelbindung im Molekül

Spalte 2: Retentionsindex I für Äthylester, Basis: Laurinsäureäthylester

Spalte 3: Retentionsindex I für Acetate, Basis: Dodecyl-1-acetat

Spalte 4: Retentionsindex I für Alkohole, Basis: Tetradecanol

Definition von I: siehe Legende für Tabelle 18

Tabelle 20:

1	2		3		4		5
	I _{Silar} -10C	I _{OV} -101	I _{Silar} -10C	I _{OV} -101	I _{Silar} -10C	I _{OV} -101	
13 : 1 (9)	-	-	1,172	0,800	1,102	0,694	
14 : 0	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	
14 : 1 (6)	1,905	1,333	1,227	0,767	-	-	
14 : 1 (7)	1,188	0,929	-	-	1,358	0,829	
14 : 1 (9)	1,375	1,088	1,372	1,967	-	-	
14 : 2 (9,11)	2,109	0,963	2,340	0,834	-	-	
16 : 0	1,625	2,323	-	-	1,720	2,317	
16 : 1 (9)	2,220	2,358	-	2,300	2,397	2,270	
18 : 1 (9)	3,623	5,290	-	12,320	-	5,00	

Tabelle 20 zeigt, daß sich die relativen Retentionsdaten der drei verschiedenen Verbindungsklassen bis auf zwei Ausnahmen ((Z)-9-Octadecenyl-1-acetat, (Z)-6-Dodecenyl-1-acetat) untereinander ähnlich verhalten. Für das der allgemeinen Tendenz widersprechende Verhalten der beiden oben erwähnten Acetate kann als mögliche Erklärung wiederum die besondere Stellung der Doppelbindung im Molekül herangezogen werden. Sie steht genau in der Mitte des Moleküls und übt daher offensichtlich einen entscheidenden Einfluß auf das chromatographische Verhalten aus. Die Ergebnisse von Tabelle 20 ermöglichen es, durch Co-Chromatographie authentischer Verbindungen Hinweise auf die C-Zahl unbekannter Verbindungen zu bekommen. Auch die Aufstellung von Querbeziehungen verschiedener Verbindungsklassen untereinander können durch die erhaltenen Ergebnisse ermöglicht werden.

III.5. Darstellung der homologen Reihen in der Form

$$\log V_R = k \cdot C + b$$

Wie auf Seite 29 bereits erwähnt, erstellt der Computer für jede Säule und jede homologe Reihe eine Geradengleichung der Form $\log V_R = k \cdot C + b$. Für jede homologe Reihe ist k und b charakteristische Größe.

Legende zu Tabelle 21

Spalte 1: Verbindungsklasse

Spalte 2: stationäre Phase

Spalte 3: Steigung k der Geraden für die entsprechende Verbindungsklasse

Spalte 4: Achsenabschnitt b der Geraden für die entsprechende Verbindungsklasse

Spalte 5: Größte Meßwertabweichung in Prozent von der bestmöglichen Geraden.

Tabelle 21

Verbindungsklasse	stationäre Phase	Steigung k	Achsenabschnitt b	relativer Fehler
(Z+E)-9-Alkenole	OV-101	0,1753	- 0,2366	0,6
(Z)-9-Alkenole	Silar-10C	0,1039	1,2038	0,9
(E)-9-Alkenole	Silar-10C	0,1100	1,0812	0,8
(Z+E)-9-Alkenyl-1-formiate	OV-101	0,1669	- 0,2216	0,9
(Z)-9-Alkenyl-1-formiate	Silar-10C	0,1063	0,9044	0,2
(E)-9-Alkenyl-1-formiate	Silar-10C	0,1094	0,8227	0,1
(Z+E)-9-Alkenyl-1-acetate	OV-101	0,1723	- 0,2905	1,1
(Z)-9-Alkenyl-1-acetate	Silar-10C	0,0933	0,9939	0,9
(E)-9-Alkenyl-1-acetate	Silar-10C	0,0938	0,9442	0,2
(Z+E)-9-Alkenyl-1-propionate	OV-101	0,1811	- 0,5045	0,2
(Z)-9-Alkenyl-1-propionate	Silar-10C	0,1093	0,7200	0,1
(E)-9-Alkenyl-1-propionate	Silar-10C	0,1102	0,6706	0,3
(Z+E)-9-Alkensäuremethylester	OV-101	0,1711	- 0,2343	0,9
(Z)-9-Alkensäuremethylester	Silar-10C	0,1065	0,8397	0,1
(E)-9-Alkensäuremethylester	Silar-10C	0,1134	0,7074	0,0
(Z+E)-9-Alkensäureäthylester	OV-101	0,1708	- 0,3063	0,2
(Z)-9-Alkensäureäthylester	Silar-10C	0,1053	0,7720	0,1
(E)-9-Alkensäureäthylester	Silar-10C	0,1093	0,6732	0,2

Fortsetzung Tabelle 21

Verbindungsklasse	stationäre Phase	Steigung k	Achsenabschnitt b	relativer Fehler
(Z+E)-11-Alkenyl-1-acetate	OV-101	0,1563	- 0,0338	1,4
(Z)-11-Alkenyl-1-acetate	Silar-10C	0,0951	1,0244	0,2
(E)-11-Alkenyl-1-acetate	Silar-10C	0,1153	0,6640	---
1, (Z+E)-11-Alkadiene	OV-101	0,1725	- 0,8145	0,1
1, (Z)-11-Alkadiene	Silar-10C	0,0638	0,6925	2,3
1, (E)-11-Alkadiene	Silar-10C	0,0880	0,2725	0,0
Alkanole-(1)	OV-101	0,1808	- 0,3153	0,1
Alkanole-(1)	Silar-10C	0,1198	0,8120	0,2
Alkyl-1-acetate	OV-101	0,1807	- 0,4450	0,4
Alkyl-1-acetate	Silar-10C	0,1215	0,4435	0,1
(Z+E)-9-Alkenale	OV-101	0,1432	0,0603	---
(Z)-9-Alkenale	Silar-10C	0,1087	0,8992	---
(E)-9-Alkenale	Silar-10C	0,1145	0,7841	---
Alkansäureäthylester	OV-101	0,1808	- 0,4803	0,1
Alkansäureäthylester	Silar-10C	0,1098	0,5666	0,3

IV. Probenuntersuchung und Auswertung der chromatographischen Ergebnisse mittels Computer

IV.1. Untersuchte Proben

Experimentell untersucht wurden Extrakte von drei verschiedenen Lepidopteren, die als besondere Schädlinge bekannt sind:

1. *Ostrinia nubilalis*, der Maiszünsler (Pyralidae)
2. *Agrotis exclamationis*, ein heimischer Forstschädling (Noctuidae)
3. *Heliothis virescens*, ein Tabakschädling (Heliothitidae).

IV.2. Probenvorbereitung

Die Vorbereitung der Extrakte war unterschiedlich, da nach verschiedenen Aufbereitungsmethoden gearbeitet worden war. Die chromatographischen Untersuchungen ergaben, daß am günstigsten mit den Proben zu arbeiten war, bei denen die Duftdrüsen nur mit Lösungsmittel abgewaschen wurden.

Chromatogramme anders aufgearbeiteter Proben zeigten eine wesentlich größere Anzahl von Peaks, wobei oft wichtige Peaks im "tailing" einer in größerer Menge vorhandenen nicht identifizierten Substanz verschwanden. Chromatographiebedingungen siehe Seite 32.

IV.2.1. *Ostrinia nubilalis*

Verwendet wurde eine Lösung von etwa 2 ml n-Hexan, in der 48 weibliche Hinterleiber abgewaschen worden waren. 0,5 ml dieser Lösung wurden mit Hilfe eines trockenen Stickstoffstromes auf etwa 50 µl eingeeengt. Davon wurden jeweils 1,0 µl in den Gaschromatographen eingespritzt.

IV.2.2. Agrotis exclamationis

Etwa 200 Hinterleibsenden weiblicher Tiere von *Agrotis exclamationis* wurden unter Methylenchlorid aufbewahrt. Aus dem Überstand wurden 0,5 ml entnommen und mit Hilfe eines trockenen Stickstoffstromes auf etwa 50 μ l eingeeengt. Danach wurde mit 50 μ l Aether aufgenommen und davon jeweils 1,0 μ l chromatographiert.

IV.2.3. Heliothis virescens

Bei diesem Tier wurden zwei verschiedene Methoden angewandt. Einmal wurde aus dem Überstand von 100 weiblichen Hinterleibsenden in n-Hexan 0,5 ml entnommen und wie oben behandelt. Außerdem wurde aus einer Lösung in der 100 Drüsen abgewaschen worden waren, 0,5 ml entnommen und wie oben aufgearbeitet.

IV.3. Meßergebnisse

Die in den Chromatogrammen mit 1, 2, etc. nummerierten Peaks wurden durch das Programm zugeordnet. Fehlergrenze für $\log V_R$ war 0,01.

IV.3.1. Ergebnisse für *Ostrinia nubilalis*

Peak No. 3 OV-101	
Peak No. 4 Silar-10C	(Z)-9-Tridecenyl-1-formiat
Peak No. 4 OV-101	
Peak No. 2 Silar-10C	(E)-9-Tridecensäuremethylester
Peak No. 4 OV-101	
Peak No. 3 Silar-10C	(Z)-9-Tridecensäuremethylester

Peak No. 9 OV-101	(Z)-11-Tetradecenyl-1-acetat
Peak No. 5 Silar-10C	
Peak No. 11 OV-101	(E)-9-Hexadecenol
Peak No. 8 Silar-10C	
Peak No. 11 OV-101	(E)-9-Tetradecenyl-1-propionat
Peak No. 5 Silar-10C	
Peak No. 16 OV-101	(Z)-9-Hexadecenyl-1-propionat
Peak No. 7 Silar-10C	
Peak No. 16 OV-101	(Z)-11-Heptadecenyl-1-acetat
Peak No. 8 Silar-10C	

Diskussion der Ergebnisse:

Bis auf (Z)-11-Tetradecenyl-1-acetat, das, laut Literatur, Lockwirkung zeigt ⁶³⁾, wurde in der Literatur keine der zugeordneten Verbindungen beschrieben. Besonders die Propionate und die zugeordneten Methylester scheinen aber keine Lockstoffe zu sein, da alle bisher bekannten Lepidopterenlockstoffe fast ausschließlich Acetate, Alkohole oder Aldehyde sind. Hinweise, ob diese Verbindungen Lockstoffwirkung zeigen, können allerdings nur EAG-Messungen oder Freilandversuche erbringen.

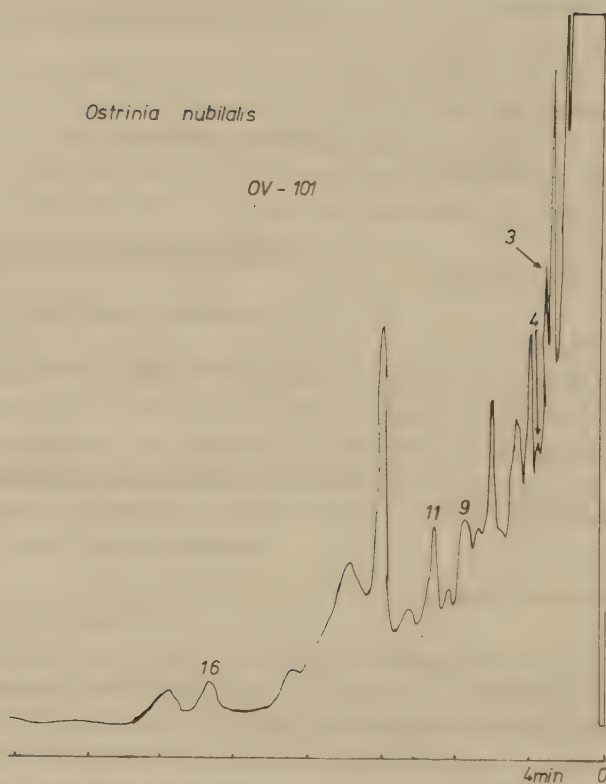


Abb. 20: Gaschromatogramm eines Extraktes von *Ostrinia nubilalis* auf OV-101, Lösungsmittel: n-Hexan
Chromatographiebedingungen siehe Seite 32.

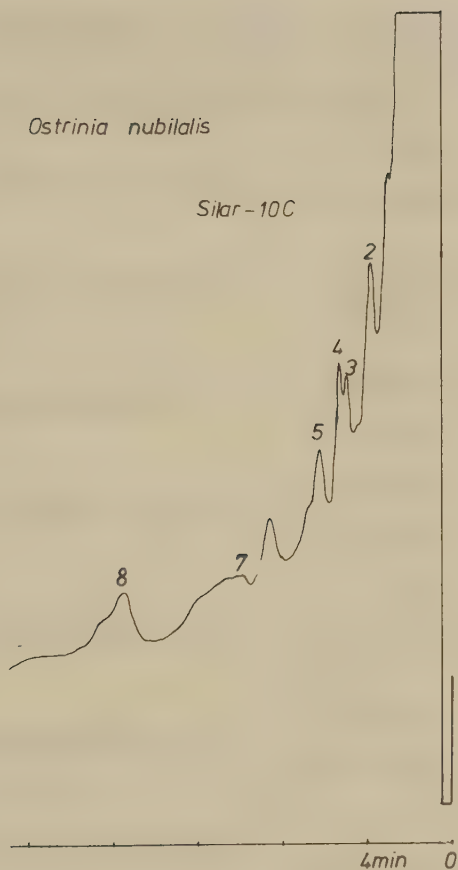


Abb. 21: Gaschromatogramm eines Extraktes von *Ostrinia nubilalis* auf Silar-10C, Lösungsmittel: n-Hexan
Chromatographiebedingungen siehe Seite 32.

IV.3.2. Ergebnisse für Agrotis exclamationis

Die unter IV.3. gemachten Bemerkungen gelten analog

Peak No. 2 OV-101	(E)-9-Tetradecenal
Peak No. 4 Silar-10C	
Peak No. 6 OV-101	(Z)-9-Hexadecenal
Peak No. 7 Silar-10C	
Peak No. 15 OV-101	(Z)-9-Hexadecensäureaethylester
Peak No. 7 Silar-10C	
Peak No. 7 OV-101	(E)-9-Tridecenyl-1-propionat
Peak No. 5 Silar-10C	
Peak No. 9 OV-101	Tetradecyl-1-acetat
Peak No. 4 Silar-10C	
Peak No. 10 OV-101	(Z)-9-Pentadecensäuremethylester
Peak No. 6 Silar-10C	
Peak No. 12 OV-101	(E)-9-Pentadecensäureaethylester
Peak No. 6 Silar-10C	
Peak No. 12 OV-101	Pentadekansäureaethylester
Peak No. 5 Silar-10C	
Peak No. 15 OV-101	Hexadekansäureaethylester
Peak No. 6 Silar-10C	

Von diesem Tier ist laut Literatur kein Lockstoff bekannt. Am wahrscheinlichsten erscheinen (E)-9-Tetradecenal und (Z)-9-Hexadecenal. Ohne EAG-Test oder Freilandversuch kann jedoch keine definitive Aussage gemacht werden.

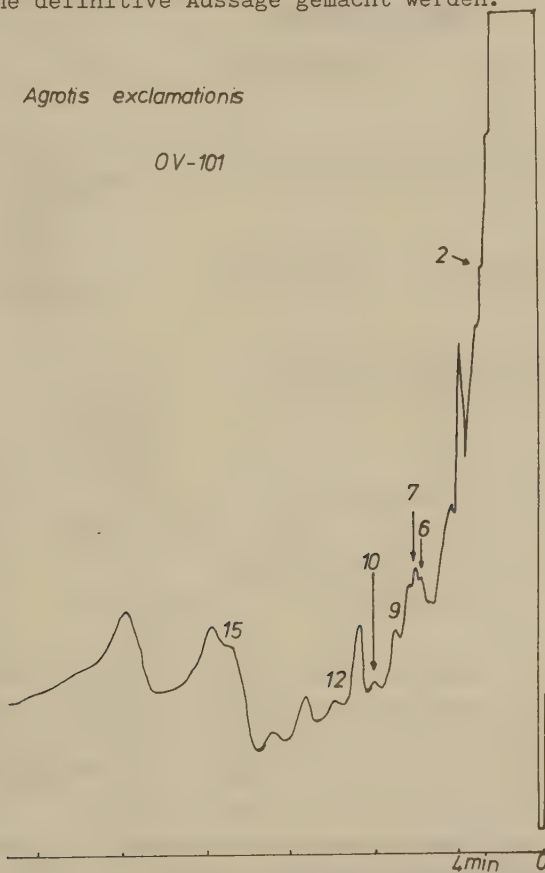


Abb. 22: Gaschromatogramm eines Extraktes von *Agrotis exclamationis* auf OV-101, Lösungsmittel: Aether
Chromatographiebedingungen siehe Seite 32.

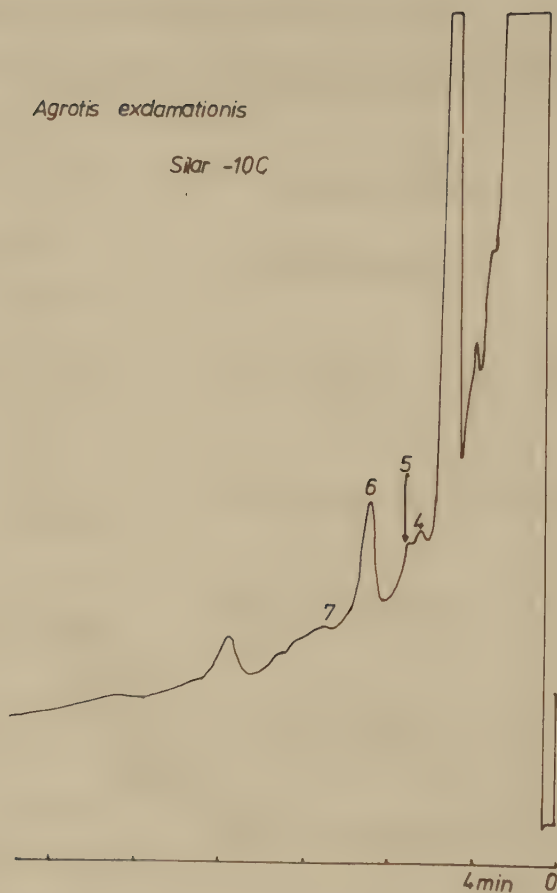


Abb. 23: Gaschromatogramm eines Extraktes von *Agrotis exclamationis* auf Silar-10C,
Lösungsmittel: Aether
Chromatographiebedingungen siehe Seite 32

IV.3.3. Ergebnisse für *Heliothis virescens*

Die unter IV.3. gemachten Bemerkungen gelten analog

Peak No. 3 OV-101	(E)-9-Tridecenol
Peak No. 7 Silar-10C	
Peak No. 3 OV-101	Dodekansäureaethylester
Peak No. 3 Silar-10C	
Peak No. 6 OV-101	Tridekansäureaethylester
Peak No. 5 Silar-10C	
Peak No. 7 OV-101	(Z)-9-Tetradecenyl-1-formiat
Peak No. 7 Silar-10C	
Peak No. 10 OV-101	(E)-9-Hexadecenol
Peak No. 10 Silar-10C	

Diskussion der Ergebnisse:

Besonders bemerkenswert ist hier die Zuordnung von (Z)-9-Tetradecenyl-1-formiat. Für diese Verbindung stellt die Literatur hohe EAG-Aktivität fest ⁵⁶⁾. Den Nachweis, daß das (Z)-9-Tetradecenyl-1-formiat tatsächlich im Extrakt vorhanden war, erbrachte eine GC-MS-Untersuchung.

Mit Hilfe des MID-Verfahrens wurde das (Z)-9-Tetradecenyl-1-formiat anhand von vier charakteristischen Massenbruchstücken identifiziert.

Aufgrund des Massenspektrums einer authentischen Vergleichssubstanz wurden die Massen 194, 96, 82 und 67 als Bezugspunkte für das MID-Verfahren ausgesucht. Chromatographiert wurde auf zwei Säulen unterschiedlicher Polarität.

Das MID wurde sowohl im CI-, als auch im EI-Verfahren durchgeführt. Beim CI-Verfahren waren die charakteristischen Massen 195, 97, 83 und 68. Die Erhöhung um eine Masseneinheit im CI-Verfahren ist, wie bereits erwähnt, durch die Protonanlagerung bei der chemischen Ionisation bedingt. (Z)-9-Tetradecenyl-1-formiat ist als erster Vertreter dieser Verbindungsklasse, der Lockstoffwirkung zeigt, identifiziert worden.

Für die übrigen Verbindungen gilt sinngemäß das bereits unter IV.3.1. und IV.3.2. Erwähnte.

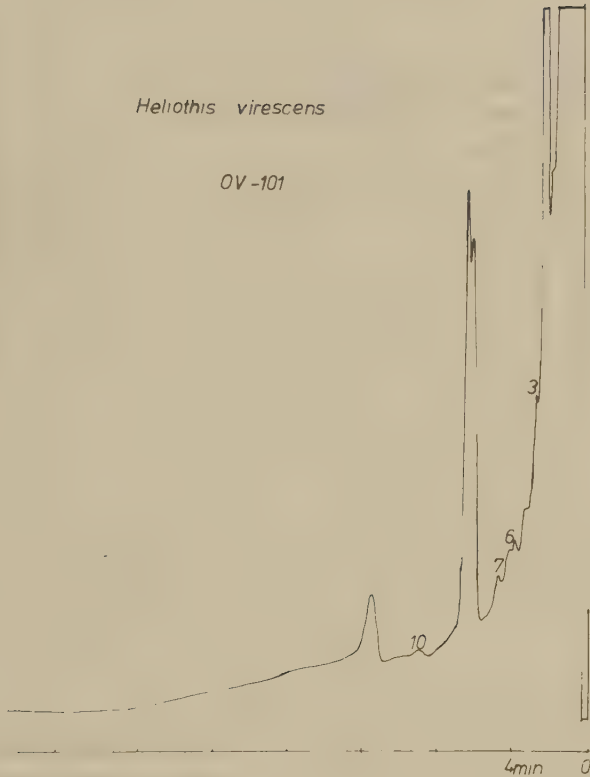


Abb. 24: Gaschromatogramm eines Extraktes von *Heliothis virescens* auf OV-101, Lösungsmittel: Aether
Chromatographiebedingungen siehe Seite 32.

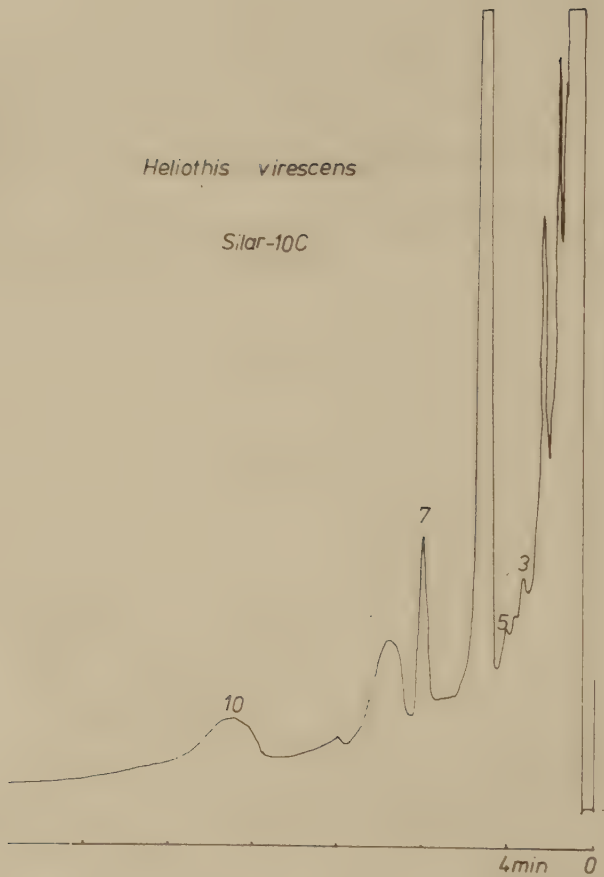


Abb. 25: Gaschromatogramm eines Extraktes von *Heliothis virescens* auf Silar-10C, Lösungsmittel: Aether
Chromatographiebedingungen siehe Seite 32.

IV.4. Überblick über die Meßergebnisse

Verschiedenen Verbindungen wird öfters die gleiche Peaknummer zugeordnet. Dies läßt sich damit erklären, daß der Computer aus verschiedenen Eichgeraden die entsprechenden Verbindungen aussucht. Sind Achsenabschnitte und Steigungen sehr ähnlich, kann es zu Berührungen oder Überschneidungen der Eichgeraden kommen. Bei ein und demselben gemessenen Retentionsvolumen können so zwei verschiedene Verbindungen mit unterschiedlicher C-Zahl gefunden werden. Auch die Wahl der Fehlergrenze kann zu solchen Überschneidungen führen. Als Fehlergrenze wurde $\pm 0,01$ im Logarithmus des Retentionsvolumens gewählt. Dies entspricht einer Ablesegenauigkeit der Retentionszeit von ± 15 sec. Genauer kann die Retentionszeit nicht bestimmt werden.

Außerdem sollten mit dieser Methode keine absoluten Werte gefunden werden, da dafür die Genauigkeit der Gaschromatographie alleine nicht ausreicht. Um eine noch höhere Genauigkeit zu erreichen und damit Überschneidungen zu vermeiden, müßten chromatographische Daten auf mindestens noch einer Säule, besser auf zwei unterschiedlichen Säulen zusätzlich, ausgewertet werden.

Als schlüssiger Beweis, ob eine Verbindung, die vom Computer "gefunden" wurde, tatsächlich vorhanden ist, kann außer spektroskopischen Methoden, die der Gaschromatographie nachgeschaltet werden, nur die Co-Chromatographie dienen. Sie wurde im Chromatogramm für *Heliothis virescens* mit (Z)-9-Tetradecenyl-1-formiat - das bereits durch Massenspektroskopie nachgewiesen wurde - und (E)-9-Tridecenol durchgeführt. Die Unterschiede in den Retentionszeiten für diese beiden Verbindungen betragen auf Silar-10C nur 12 sec. Das liegt innerhalb der Fehlergrenze. Auf OV-101 kommen beide Verbindungen an verschiedenen Stellen. Hier beträgt die Retentionszeitdifferenz 1,75 min. Beide Verbindungen wurden nun dem Extrakt zugemischt und chromatographiert.

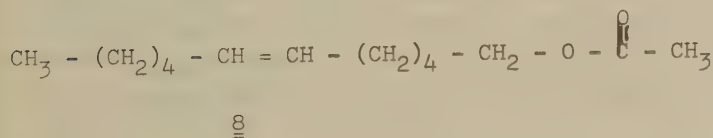
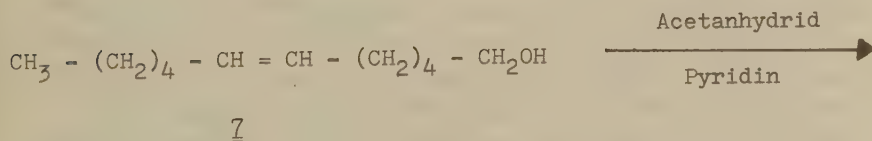
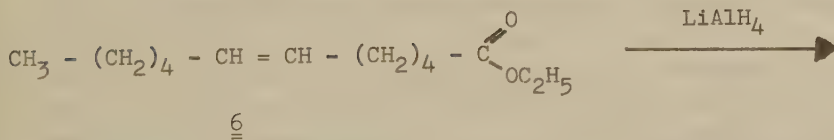
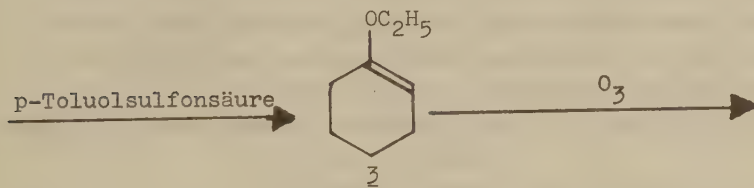
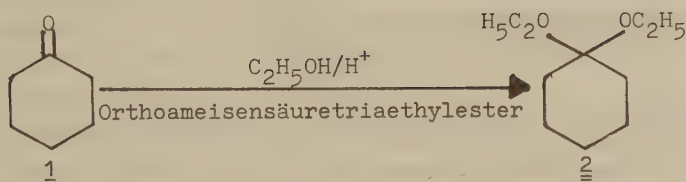
An den entsprechenden Stellen konnte im Chromatogramm eine eindeutige Peak-Vergrößerung festgestellt werden. Beide Verbindungen waren demnach im Extrakt vorhanden.

V. Synthetische Arbeiten

V.1. Darstellung der Verbindungen mit Doppelbindung in Position 6

Ausgehend vom Cyclohexanon (1) wurde nach der Methode von Schmidt und Grafen ¹⁰²⁾ das Cyclohexanondiaethylketal (2) dargestellt. Mit p-Toluolsulfonsäure als Katalysator erhielt man aus 2 den Cyclohexenyl-1-ethyläther (3) ¹⁰²⁾. Durch Ozonolyse von 3 in Methylenchlorid ¹⁰³⁾ bei - 50°C entstand das 5-(Äthoxy-carbonyl)-pentanal (4). Dies wurde mit Hexylidentriphenylphosphoran (5) in einer stereoselektiven (Z)-Olefinierung ¹⁰⁴⁾ zu (Z)-6-Dodecensäureäthylester (6) umgesetzt. Durch Reduktion mit Lithiumaluminiumhydrid entstand (Z)-6-Dodecenol (7) ¹⁰⁵⁾. Verbindung 7 wurde schließlich mit Acetanhydrid/Pyridin zu (Z)-6-Dodecenyl-1-acetat (8) verestert ¹⁰⁶⁾.

Formelschema:



V.2. Präparativer Teil

V.2.1. Cyclohexanonodiaethylketal (2)

98.00 g (1 Mol) Cyclohexanon, 115.00 g (2.50 Mol) wasserfreies Aethanol und 283.20 g (2.40 Mol) Orthoameisensäuretriaethylester werden zusammen mit 1 - 2 Tropfen konzentrierter Schwefelsäure vier Stunden unter Rückfluß erhitzt und dann über Nacht stehen gelassen. Anschließend neutralisiert man mit Natriumaethylatlösung und destilliert über eine wirksame Kolonne. Kp. $75^{\circ}\text{C}/12$ Torr (Lit.¹⁰²) $72^{\circ}\text{C}/9$ Torr), Ausbeute: 116.00 g $\hat{=}$ 95% der Theorie (Lit.¹⁰²) 95%).

V.2.2. Cyclohexenyl-(1)-aethylaether (3)

116.00 g (0.92 Mol) des erhaltenen Ketals (2) werden mit 0.1% wasserfreier p-Toluolsulfonsäure versetzt und bei 100 Torr auf etwa 100 bis 110°C erhitzt. Das entstandene Aethanol wird abdestilliert und der Rückstand im Vakuum über eine Kolonne fraktioniert.

Kp. $65 - 67^{\circ}\text{C}/15$ Torr (Lit.¹⁰²) $70 - 72^{\circ}\text{C}/20$ Torr)
Ausbeute: 49.00 g $\hat{=}$ 70% der Theorie (Lit.¹⁰²) 71%).

V.2.3. 5-Aethoxy-carbonyl)-pentanal (4)

36.80g (300 mmol) Cyclohexenyl-1-aethylaether (3) werden in 100 ml wasserfreiem Methylenchlorid gelöst und bei -50°C der Ozonolyse unterworfen (Ozongenerator der Firma Fischer-Labortechnik, Bonn-Bad Godesberg). Nach Beendigung der Ozonolyse gibt man unter weiterer Kühlung 78.60 g (300 mmol) Triphenylphosphin gelöst in etwa 75 ml wasserfreiem Methylenchlorid zu und läßt über Nacht unter Rühren auftauen. Man zieht das Lösungsmittel ab und versetzt mit Aether.

Nach Abkühlen auf -20°C filtriert man vom ausgefallenen Triphenylphosphinoxid ab. Diese Operation muß mehrmals wiederholt werden. Zur endgültigen Reinigung destilliert man nach Abziehen des Lösungsmittels im Vakuum über eine Vigreux-Kolonne.

Kp. $76 - 78^{\circ}\text{C} / 0.4 \text{ Torr}$, Ausbeute: $11.00 \text{ g} \hat{=} 50\%$ der Theorie.

IR (Film): 2995 (C - H) , 2730 (CO - H) , 1750 (C = O) ,
 $1180 \text{ cm}^{-1} \text{ (C - O)}$.

$^1\text{H} - \text{NMR (CDCl}_3\text{)}$: $\tau = 9.20 \text{ (t, } J = 2 \text{ Hz, CHO)}$, 5.85
 $(\text{q, } J = 7 \text{ Hz, OCH}_2\text{)}$, $7.6 \text{ (mc, } 2 \text{ CH}_2\text{)}$,
 $8.30 \text{ (mc, } 2 \text{ CH}_2\text{)}$, $8.75 \text{ (t, } J = 7 \text{ Hz, CH}_3\text{)}$.

$\text{C}_8\text{H}_{14}\text{O}_3 \text{ (158.2) Ber. C } 60.08 \text{ H } 8.89$
 $\text{Gef. C } 60.12 \text{ H } 8.82$

V.2.4. (Z)-6-Dodecensäureaethylester (6)

Aus 1.36 g (35 mmol) kleingeschnittenem Kalium in ca. 50 ml wasserfreiem Hexamethylphosphorsäuretriamid und 16.35 g (38.50 mmol) Triphenylhexylphosphoniumbromid bereitet man sich eine Ylidlösung (Stickstoffschutz, Schlenkrohr). Vor der Salzzugabe muß solange gewartet werden, bis sich alles Kalium gelöst hat. Dabei nimmt die anfangs tiefblaue Lösung eine braune Farbe an. Nach der Salzzugabe schlägt die Farbe nach Rot um. Das bei der Reaktion entstandene Dimethylamin wird im Wasserstrahlvakuum (Feuchtigkeitsausschluß) abgezogen. Nach etwa vierstündigem Rühren tropft man unter Eiswasserkühlung 5.50 g (35 mmol) 5-(Aethoxycarbonyl)-pentanal (4) zu und läßt über Nacht rühren. Das Reaktionsprodukt wird in Eiswasser gegossen, das mit verdünnter Schwefelsäure angesäuert ist und der entstandene ungesättigte Ester wird mehrmals mit n-Hexan ausgeschüttelt. Die vereinigten n-Hexanauszüge werden dann mit verdünnter Schwefelsäure und anschließend mehrfach mit 20%iger Natriumbisulfitlösung gewaschen, um Aldehydspuren zu entfernen.

Man läßt bei -20°C stehen, um Wasser und mitextrahiertes Triphenylphosphinoxid zu entfernen. Nach Filtrieren unter Kühlung wird das Lösungsmittel weitgehend abgezogen und mit 1 - 2 ml Methyljodid versetzt, um bei der Reaktion entstandenes Triphenylphosphin als Methyl-triphenylphosphoniumjodid abzutrennen. Dazu läßt man bei Raumtemperatur über Nacht im Dunkeln stehen. Es wird erneut n-Hexan im Überschuß zugegeben und bei -20°C 2 - 3 Stunden stehen gelassen. Das ausgefallene Triphenylphosphoniumjodid wird in der Kälte abgesaugt, das überschüssige Lösungsmittel abrotiert und anschließend im Vakuum destilliert. Kp. $87 - 88^{\circ}\text{C}/0.01$ Torr, Ausbeute: $2.20\text{ g} \hat{=} 30\%$ der Theorie.

IR (Film): 2950 (C - H), 2870 (C - H), 1730 (C = O), 1650 (C = C), 1180 (C - O), 720 cm^{-1} (cis - C - H).

^1H - NMR (CDCl_3): $\tau = 4.65$ (mc, olef. H), 5.85 (q, J = 7 Hz , OCH_2), $7.50 - 9.00$ (m, CH_2), 9.10 (A_3B_2 , CH_3).

$\text{C}_{14}\text{H}_{26}\text{O}_2$ (226.3) Ber.C 74.40 H 11.51
Gef.C 74.55 H 11.57

V.2.5. (Z)-6-Dodecenol (7)

In einem 250 ml Kolben werden 300 mg (7.30 mmol) Lithiumalanat in 50 ml wasserfreiem Aether aufgeschlämmt. Dazu tropft man unter Rühren (Magnetrührer, Rückflußkühler, CaCl_2 -Rohr) langsam 1.80 g (7.30 mmol) (Z)-6-Dodecensäureäthylester (6), gelöst in 25 ml wasserfreiem Aether. Anschließend wird 1 Stunde unter Rückfluß erhitzt. Zum Aufarbeiten gibt man tropfenweise Eiswasser zu, bis keine Wasserstoffentwicklung mehr feststellbar ist. Es wird nun soviel Ammoniumchlorid zugegeben, bis der ausgefallene Niederschlag in Lösung gegangen ist. Die Aetherphase wird zweimal mit Wasser gewaschen und über wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet. Nach dem Abziehen des Lösungsmittels

wird im Kugelrohr bei 100 - 120°C/0.01 Torr destilliert.
Ausbeute: 1.10 g $\hat{=}$ 85% der Theorie.

IR (Film): 3400 (OH), 2950 (C - H), 1650 (C = C), 1050
(C - O), 720 cm⁻¹ (cis - C - H und (CH₂)_n).

¹H - NMR (CCl₄): τ = 4.70 (mc, olef. H), 6.10 (OH), 6.50
(t, J = 7 Hz, OCH₂), 7.70 - 9.00 (m, CH₂),
9.10 (A₃B₂, CH₃).

C₁₂H₂₄O (184.3) Ber.C 78.35 H 13.05
Gef.C 78.39 H 12.92

V.2.6. (Z)-6-Dodecenyl-1-acetat (8)

1.00 g (5.90 mmol) (Z)-6-Dodecenol (7) werden mit 25 ml frisch destilliertem Acetanhydrid und 25 ml wasserfreiem Pyridin bei 50 - 60°C unter Rühren über Nacht erhitzt (Magnetrührer, Rückflußkühler). Nach dem Erkalten wird abrotiert und der Rückstand mit Aether aufgenommen. Dieser Vorgang muß wiederholt werden. Anschließend wäscht man 2 - 3 mal mit je 20 ml Wasser, um entstandenes Pyridiniumsalz zu entfernen. Nach dem Trocknen mit wasserfreiem Natriumsulfat wird der Aether abdestilliert und der Rückstand im Kugelrohr bei 120 - 130°C/0.04 Torr destilliert. Ausbeute: 800 mg $\hat{=}$ 60% der Theorie.

IR (Film): 2950 (C - H), 1740 (C = O), 1650 (C = C),
720 cm⁻¹ (cis - C - H und (CH₂)_n).

¹H - NMR (CCl₄): τ = 4.65 (mc, olef. H), 6.00 (t, J =
7 Hz, OCH₂), 8.05 (s, CH₃CO), 7.70 -
8.90 (m, CH₂), 9.10 (A₃B₂, CH₃).

C₁₄H₂₆O₂ (226.3) Ber. C 74.40 H 11.51
Gef. C 74.48 H 11.32

C. ZUSAMMENFASSUNG

Die vorliegende Arbeit befaßte sich im wesentlichen mit chromatographischen Untersuchungen an Lepidopteren-Sexuallockstoffen und chemisch verwandten Verbindungen.

I. Dünnschicht-Chromatographie

Mit Hilfe der DC wurde anhand von zwei Modellsubstanzen, dem (Z)-9-Dodecenyl-1-acetat und dem (Z)-9-Tetradecenyl-1-acetat die Erfassungsgrenze für langkettige, ungesättigte Acetate bestimmt. Zu dieser Verbindungsklasse gehören sehr viele Sexuallockstoffe von weiblichen Lepidopteren. Die Versuche ergaben, daß erst ab 250 µg Substanz die Acetate auf den DC-Platten wiedergefunden werden konnten. Diese Menge bedeutet, bei einer Lockstoffproduktion von 5 ng pro Tier (höchster Wert, der in der Literatur angegeben wird) einen Tierbedarf von rund 50.000 Individuen.

II. Kombination Dünnschicht-Chromatographie - Gaschromatographie

Mit 1000 Abdomen weiblicher Kiefernknospentriebwickler (*Rhyacionia buoliana*, Tortricidae) wurde eine neue Analysenmethode erprobt. Der Lockstoff, (E)-9-Dodecenyl-1 acetat wurde 1974 aufgeklärt ⁷¹⁾. Die Autoren benötigten dazu 20.000 Tiere.

Nach Homogenisieren der 1000 Abdomen und Ausfällen inaktiver Lipide wurde der entstandene Extrakt, nach dem Einengen, der präparativen DC auf Kieselgel unterworfen. Von der DC-Platte wurden 6 Zonen abgeschabt, das erhaltene Material mit Aether eluiert und für jede Zone ein Gaschromatogramm auf Silar-10C angefertigt. Die Vergleichssubstanz (E)-9-Dodecenyl-1-acetat wurde mit Hilfe silbernitratimprägnierter präparativer DC-Platten aus einem

Gemisch von (Z)- und (E)-9-Dodecenyl-1-acetat isoliert. Durch Vergleich der Retentionszeiten und Co-Chromatographie konnte das (E)-9-Dodecenyl-1-acetat in den Zonen III und IV des chromatographischen Extraktes gefunden werden.

III. Untersuchung über die Trennung von geometrischen Isomeren auf Silar-10C

Bei der Gaschromatographie auf Silar-10C konnten die untersuchten 12 homologen Reihen in zwei Gruppen eingeteilt werden.

Gruppe I: Die Trennung von (Z)- und (E)-Isomeren ist unabhängig von der C-Zahl und Stellung der Doppelbindung im Molekül.

Gruppe II: Je höher die C-Zahl (d.h. je weiter die Doppelbindung in die Molekülmitte rückt (bei festgehaltener Position der Doppelbindung), umso schlechter ist die Trennung in (Z)- und (E)-Isomeres. Bei C-Zahlen kleiner als 20 wird das (E)-Isomere zuerst eluiert. Für C-Zahlen größer als 20 müßte hypothetisch eine Umkehrung des Verhaltens eintreten. Der Nachweis konnte aus experimentellen Gründen nicht erbracht werden.

Als Erklärung für dieses Verhalten kann die Stellung der Doppelbindung im Molekül herangezogen werden. Je weiter die Doppelbindung in die Mitte des Moleküls rückt, umso "symmetrischer" wird es. Die + I-Effekte der Alkylketten für das (Z)- und (E)-Isomere auf die Doppelbindung verlieren an Einfluß, da sie bei gleicher Alkylkettenlänge vor und nach der Doppelbindung so gering werden, daß die daraus Resultierende keinen meßbaren Einfluß mehr auf die Polarisierbarkeit und die Polarität von (Z)- und (E)-Isomeren hat. Beide Isomere gleichen sich in ihrer Polarität an und werden zu gleicher Zeit eluiert.

Eine Erklärung für das Verhalten von Verbindungen der Gruppe I konnte im untersuchten Bereich der homologen Reihen nicht gefunden werden.

IV. Substanzidentifizierung mittels homologer Reihen

Substanzen, die 12 verschiedenen homologen Reihen angehören, wurden auf zwei Säulen unterschiedlicher Polarität (OV-101 unpolar, Silar-10C polar) chromatographiert. Aus den dabei erhaltenen Meßdaten wurde mit Hilfe der grundlegenden Formel für die Gaschromatographie $\log V_R = k \cdot C + b$ (gültig für eine stationäre Phase und konstante Temperatur) ein Computerprogramm erstellt. (V_R = Retentionsvolumen, C = Anzahl der Kohlenstoffatome, k = Proportionalitätskonstante, b = Achsenabschnitt).

Der Computer errechnete mit den Meßdaten der 12 homologen Reihen Eichgeraden. Diese Eichgeraden wurden nun zur Substanzidentifizierung herangezogen.

Extrakte von drei Schädlingen ((*Ostrinia nubilalis* (Pyralidae), *Agrotis exclamationis* (Noctuidae) und *Heliothis virescens* (Heliothitidae)) wurden auf OV-101 und Silar-10C chromatographiert. Die Chromatographiedaten wurden dem Computer eingegeben.

Durch Vergleich mit den Eichgeraden konnten einige Verbindungen zugeordnet werden.

Bei *Ostrinia nubilalis* wurde (Z)-11-Tetradecenyl-1-acetat gefunden. Es wird in der Literatur als Lockstoff bezeichnet ⁶³⁾. Für alle übrigen erkannten Verbindungen müssen erst noch EAG- und Freilandversuche durchgeführt werden.

Über *Agrotis exclamationis* gibt es in der Literatur noch keine Hinweise auf einen Lockstoff. Für dieses Tier konnte der Computer als wichtigste Verbindungen (E)-9-Tetradecenal und (Z)-9-Hexadecenal ermitteln. Diese beiden Komponenten gehören zu Verbindungsklassen, die bereits in der Literatur

als Lepidopteren-Lockstoffe bekannt sind. Endgültige Aussagen können aber erst nach EAG-Messungen oder Freilandversuchen gemacht werden.

Für *Heliothis virescens* wurden bisher in der Literatur drei Lockstoffe diskutiert: (Z)-11-Hexadecenal, (Z)-9-Tetradecenal und (Z)-9-Tetradecenyl-1-formiat.

Das Formiat konnte zum erstenmal als Lockstoff in einem Extrakt mit Hilfe des Computers erkannt werden. Den endgültigen Nachweis über das Vorhandensein dieser Verbindung erbrachte eine GC-MS-Untersuchung. Hierbei wurde das Formiat mit Hilfe des MID-Verfahrens anhand der vier charakteristischen Massen 194, 96, 82 und 67 identifiziert.

D. LITERATURVERZEICHNIS

- 1) P. Karlson und M. Lüscher, Naturwissenschaften 41, 63 (1959).
- 2) W.L. Brown, T. Eisner und R.H. Whittaker, Bio Science 20, 21 (1970).
- 3) M. Jacobson, Insect Pheromones, S.2., Academic Press, New York - London 1972
- 4) R.P. Michael, R.W. Bonsall und P. Warner, Science 186, 1217 (1974).
- 5) L. Jaenicke, Chemie in unserer Zeit 9 (2), 50 (1975).
- 6) H.Z. Levinson, Naturwissenschaften 59, 477 (1972).
- 7) D. Schneider, Symp. Soc. exp. Biol. 20, 273 (1965).
- 8) D. Schneider, Naturwissenschaften 58, 194 (1971).
- 9) J.A. Klun und T.A. Brindley, J. Econ. Entomol. 63 (3), 729 (1970).
- 10) R.J. Bartell und H.H. Shorey, J. Insect Physiol. 15, 33 (1969).
- 11) J.M. Tumlinson, D.D. Hardee, R.C. Guelldner, A.C. Thompson, P.A. Hedin und J.P. Munyard, Science 166, 1010 (1969).
- 12) L.L. Sower, J.A. Coffelt und K.W. Vick, J. Econ. Entomol. 66 (5), 1220 (1973).
- 13) L.E. Browne, M.C. Birch und D.L. Wood, J. Insect Physiol. 20, 183 (1974).
- 14) K.J. Byrne, W.E. Gore, G.T. Pearce und R.M. Silverstein in Vorbereitung.
- 15) A. Butenandt, R. Beckmann, D. Stamm und E. Hecker, Z. Naturforsch. 14b, 283 (1961).
- 16) E. Truscheit und K. Eiter, Liebigs Ann. Chem. 658, 65 (1962).
- 17) A. Butenandt, R. Beckmann, D. Stamm und E. Hecker, Z. Naturforsch. 14b 283 (1959).

- 18) A. Butenandt, E. Hecker, M. Hopp und W. Koch, Liebigs Ann. Chem. 658, 39 (1962).
- 19) K.E. Kaissling und E. Priesner, Naturwissenschaften 57, 23 (1970).
- 20) W.E. Burkholder, in: Control of Insect Behavior by Natural Products, D.L. Wood, R.M. Silverstein und M. Nakayima (Herausgeber), S.1, Academic Press, New York - London 1970
- 21) D. Schneider, Z. vergl. Physiol. 40, 8 (1957).
- 22) W.A. Kafka, Z. Physiol. 70, 105 (1970).
- 23) W.L. Roelofs und J.P. Tette, Nature 226, 1172 (1970).
- 24) E. Priesner, unveröffentlicht
- 25) R. Lange und D. Hoffmann, Naturwissenschaften 59 (5), 217 (1972).
- 26) A.K. Minks und J.P.W. Noording, Entomol. Exp. Appl. 14, 57 (1971).
- 27) C.W. Berisford und U.E. Brady, J. Econ. Entomol. 65, 430 (1972).
- 28) K. Nagata, Y. Tamaki, H. Noguchi, T. Yushima, J. Insect Physiol. 18, 339 (1972).
- 29) R.S. Kaae und H.H. Shorey, Ann. Entomol. Soc. Am. 85, 436 (1972).
- 30) M. Beroza, Chemicals Controlling Insect Behavior, S. 145, Academic Press, New York - London 1970
- 31) W.W. Wolf, A.N. Kishaba, A.F. Howland und T.J. Henneberry, J. Econ. Entomol. 60, 1182 (1967).
- 32) H.M. Graham, J.M. Mc Gough und M. Jacobson, J. Econ. Entomol. 59, 761 (1966).
- 33) R.M. Waters und M. Jacobson, J. Econ. Entomol. 58, 370 (1965).
- 34) M. Jacobson, Science 163, 190 (1969).
- 35) E.H. Glass, W.L. Roelofs, H.A. Arn und A. Comeau, J. Econ. Entomol. 63, 370 (1970).
- 36) W.L. Roelofs, J.P. Tette, E.F. Taschenberg und A. Comeau, J. Insect Physiol. 17, 2235 (1971).

- 37) G.M. Meyer, F.J. Ritter, V.J. Persoons, A.K. Minks und S. Voerman, Science 175, 1469 (1972).
- 38) E. Priesner, Fortschr. Zool. 22 (1), 49 (1973).
- 39) G. Neuffer, Anz. Schdlingsbek. Pflanzen - Umweltschutz 47, 116 (1974).
- 40) Sh. Ishii und H. Fukami, Agric. Biol. Chem. 35 (3), 447 (1971).
- 41) A.K. Minks, W.L. Roelofs, F.J. Ritter und C.J. Persoons, Science 180 (4090), 1073 (1973).
- 42) C.J. Persoons, A.K. Minks, S. Voerman, W.L. Roelofs und F.J. Ritter, J. Insect Physiol. 20 (7), 1181 (1974).
- 43) L.B. Hendry, I. Ingovich, L. Roman, M.E. Anderson und R.O. Mumma, Experientia 30, 886 (1974).
- 44) J.S. Read, P.H. Hewitt, F.L. Warren und A.C. Myberg, J. Insect Physiol. 20 (3), 441 (1974).
- 45) W.L. Roelofs und H. Arn, Nature (London) 219, 513 (1968).
- 46) R.S. Kaae, H.H. Shorey und L.K. Gaston, Science 179 (4072), 487 (1973).
- 47) U.E. Brady, Life Sciences Vol. 13, 227 (1973).
- 48) E.W. Brady und R.C. Daley, Ann. Entomol. Soc. Amer. 65 (6), 1356 (1972).
- 49) J. Weatherston, W. Roelofs, A. Comeau und C.J. Sanders, The Canadian Entomologist 103, 1741 (1971).
- 50) W.L. Roelofs und J.P. Tette, Nature 226, 1172 (1970).
- 51) B.F. Nesbitt, P.S. Beevor, R.A. Cole, R. Lester und R.G. Poppi, Nature New Biology 244, 208 (1973).
- 52) U.E. Brady und D.A. Nordlund, Life Sci. 10, 797 (1971).
- 53) R.L. Leyer und R.E. Monroe, J. Insect Physiol. 19 (11), 2267 (1973).
- 54) W.L. Roelofs, A. Comeau und R. Sette, Nature 224, 723 (1969).
- 55) W.L. Roelofs, A.S. Hill, R.T. Card und T.C. Baker, Life Sciences Vol. 14, 1555 (1974).
- 56) M. Jacobson, B.J. Landis, D.E. Hendricks, E. Priesner und H.J. Bestmann, Chem. Eng. News, Dec.19, 1972

- 57) W. Roelofs und T.R. Cardé, Science 171, 684 (1971).
- 58) U.E. Brady und M.C. Ganyard jr., Ann. Entomol. Soc. Amer. 65 (4), 898 (1972).
- 59) B.A. Butt, T.P. Mc Govern, M. Beroza und D.O. Hathaway, J. Econ. Entomol. 67 (1), 37 (1974).
- 60) W.L. Roelofs, J. Kochansky, T.R. Cardé, H. Arn und S. Rauscher, Bull. Soc. Entomol. Suisse 46, 71 (1973).
- 61) A.B. Bierl, M. Beroza und C.W. Collier, J. Econ. Entomol. 65 (3), 659 (1972).
- 62) H.E. Henderson, F.L. Warren, O.P. Augustyn, B.V. Burger, D.F. Schneider, P.R. Boshoff, H.S. Spies und H. Geertsema, J. Insect Physiol. 19, 1237 (1973).
- 63) J.A. Klun und T.A. Brindley, J. Econ. Entomol. 63, 779 (1970).
- 64) H.E. Hummel, L.K. Gaston, H.H. Shorey, R.S. Kaae, H.J. Byrne und R.M. Silverstein, Science 181, 873 (1973).
- 65) W.M. Bode, D. Asquith und J.P. Tette, J. Econ. Entomol. 67 (5), 1129 (1974).
- 66) A. Hill, T.R. Cardé, W. Bode und W.L. Roelofs, Environm. Entomol. 3 (2), 249 (1974).
- 67) Y. Kuwahara, C. Kitamura, S. Takahashi, H. Hara, S. Ishii und H. Fukami, Science 171 (3973), 801 (1971).
- 68) M. Jacobson, R.E. Redfern, W.A. Jones und M.H. Aldridge, Science 170, 542 (1970).
- 69) J.H. Tumlinson, E.R. Mitchell, S.M. Browner und D.A. Lindquist, Environm. Entomol. 1 (4), 466 (1972).
- 70) W.L. Roelofs und T.R. Cardé, Science 171, 684 (1971).
- 71) R.G. Smith, G.E. Daterman, G.D. Daves jr., K.D. Mc Murterey, D. Kenneth und W.L. Roelofs, J. Insect Physiol. 20, 661 (1974).
- 72) J.H. Tumlinson, C.E. Yonce, R.E. Doolittle, R.R. Heath, C.R. Gentry und E.R. Mitchell, Science 185, 614 (1974).
- 73) K.W. Vick, H.C.F. Su, L.L. Sower, P.G. Mahany und P.C. Drummond, Experientia 30 (1), 17 (1974).

- 74) E.R. Mitchell und J.H. Tumlinson, Ann. Entomol. Soc. Amer. 66, 917 (1973).
- 75) A.A. Sekul und A.N. Sparks, J. Econ. Entomol. 66, 1270 (1967).
- 76) Y. Tamaki, H. Noguchi und T. Yushima, Appl. Ent. Zool. 8 (3), 200 (1973).
- 77) Y. Tamaki und T. Yushima, J. Insect Physiol. 20 (6), 1005 (1974).
- 78) R.S. Berger, Ann. Entomol. Soc. Amer. 59, 767 (1966).
- 79) J. Meinwald, C.J. Boriach, D. Schneider, M. Boppré, W.F. Wood und T. Eisner, Experientia 30, 723 (1974).
- 80) R.T. Aplin und M.C. Birch, Experientia 26, 1193 (1970).
- 81) J.A. Edgar, C.C.J. Culvenor und L.W. Smith, Experientia 27, 761 (1971).
- 82) T.E. Bellas, R.G. Brownlee und R.M. Silverstein, Tetrahedron 30 (15), 2267 (1974).
- 83) J.R. Clearwater, J. Insect Physiol. 18, 781 (1972).
- 84) G.C. Grant, U.E. Brady und M.J. Brand, Ann. Entomol. Soc. Amer. 65, 1224 (1972).
- 85) H.J. Bestmann, P. Range und R. Kunstmann, Chem.Ber. 104, 65 (1971).
- 86) H.J. Bestmann und W. Stransky, Synthesis, 1974, 798
- 87) H.J. Bestmann und O. Vostrowsky, Tetrahedron Lett., 1974, 207
- 88) H.J. Bestmann, O. Vostrowsky und A. Plenchette, Tetrahedron Lett., 1974, 779
- 89) H.J. Bestmann, O. Vostrowsky und H. Platz, Chem. Zeitung 98, 161 (1974).
- 90) O. Vostrowsky, H.J. Bestmann und E. Priesner, Nachrichten aus Chemie und Technik 21, 501 (1973).
- 91) E. Priesner, M. Jacobson und H.J. Bestmann, Z. Naturforsch. 30c, 283 (1975).
- 92) E. Stahl, Dünnschicht-Chromatographie, Springer Verlag, Berlin - Heidelberg - New York, 2. Auflage 1967 S. 849

- 93) F.C. den Boer, Z. Analyt. Chem. 205, 308 (1964).
- 94) M.A. Muhs und F.T. Weiss, J. Am. Chem. Soc. 84, 4697 (1962).
- 95) K.H. Kubeczka, Planta Medica (Suppl.) 15, 79 (1967).
- 96) S. Ettre und W.H. Mc Fedden, Ancillary Technics of Gaschromatography, Wiley-Interscience, New York - London - Sydney - Toronto 1969
- 97) D.A. Lethard und B.C. Shurlock, Identification Technics in Gaschromatography, Wiley-Interscience, New York - London - Sydney - Toronto 1970
- 98) E. Kováts, Helv. chim. Acta 41, 1915 (1958).
- 99) J.K. Haken, J. Chromatog. 23, 375 (1966).
- 100) G.R. Jamieson und E.H. Reid, J. Chromatog. 26, 8 (1967).
- 101) J.K. Haken, J. Chromatog. 26, 17 (1967).
- 102) U. Schmidt und P. Grafen, Liebigs Ann. Chem. 656, 97 (1962).
- 103) P. Range, Dissertation Universität Erlangen-Nürnberg 1973
- 104) W. Stransky, Dissertation Universität Erlangen-Nürnberg 1973
- 105) Organikum, VEB Deutscher Verlag der Wissenschaften Berlin 1967 S. 484
- 106) Loc. cit. 105) S. 388
- 107) L. Ruzicka, W. Brugger, M. Pfeiffer, H. Schinz und M. Stoll, Helv. chim. Acta 9, 499 (1926).
- 108) K. Ziegler und W. Hechelhammer, Liebigs Ann. Chem. 528, 114 (1937).

Lebenslauf

Werner S c h w a r z

Geboren: 2.4.1946 in Nürnberg

Eltern: Johann Schwarz, Kellermeister und
Margarete Schwarz, geb. Winter

Volksschule: 1952 - 1956 in Altenberg, Krs. Fürth/Bay.

Höhere Schule: 1956 - 1966 Hardenberg-Gymnasium in
Fürth/Bay., Reifezeugnis dieser Schule
vom 19.7.1966

Studienbeginn: Wintersemester 1966/67 an der
Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen - Nürnberg

Diplomchemiker-
Vorprüfung: Dezember 1969

Diplomchemiker-
Hauptprüfung: Dezember 1971

Diplomarbeit: Januar 1972 - März 1973
bei Prof. Dr. H.J. Bestmann

Dissertation: April 1973 - Februar 1975
bei Prof. Dr. H.J. Bestmann

